



SKRIPSI – TK 141581

**PENGARUH VARIASI *PRETREATMENT* BIOLOGIS
PADA LIMBAH KULIT KOPI TERHADAP PROSES
HIDROLISA UNTUK MENGHASILKAN GULA
REDUKSI**

Oleh:

**DWI AYU PRIMANINGRUM
NRP. 2314105027**

**ATIKAH BADRIYA HUSEIN
NRP. 2314105036**

Dosen Pembimbing

Ir. Nuniek Hendrianie, MT

NIP. 1957 11 11 1986 01 2001

Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng

NIP. 1959 07 30 1986 13 2001

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2017**



SKRIPSI – TK 141581

**EFFECT OF VARIATION BIOLOGICAL
PRETREATMENT ON COFFE PULP WASTE BY
HYDROLISYS PROCESS TO PRODUCE SUGAR
REDUCTION**

Oleh:

**DWI AYU PRIMANINGRUM
NRP. 2314105027**

**ATIKAH BADRIYA HUSEIN
NRP. 2314105036**

Dosen Pembimbing

**Ir. Nuniek Hendrianie, MT
NIP. 1957 11 11 1986 01 2001**

**Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng
NIP. 1959 07 30 1986 13 2001**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2017**

LEMBAR PENGESAHAN

“PENGARUH VARIASI *PRETREATMENT* BIOLOGIS PADA LIMBAH KULIT KOPI TERHADAP HIDROLISA UNTUK MENGHASILKAN GULA REDUKSI”

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

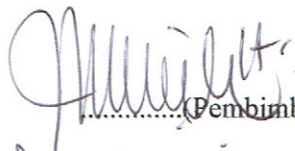
Oleh :

Dwi Ayu Primaningrum
Atikah Badriya H.

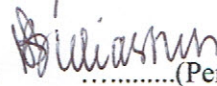
2314105027
2314105036

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir:

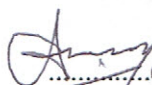
1. Ir. Nuniek Hendrianie, M.T

.....(Pembimbing 1)

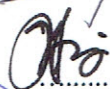
2. Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng

.....(Pembimbing 2)


3. Prof. Dr. Ir. Ali Altway, MSc

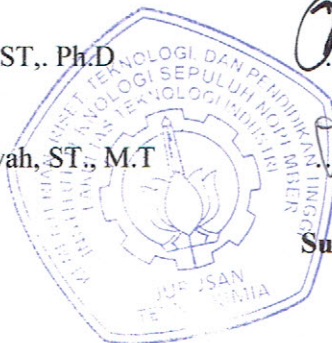
.....(Penguji 1)

4. Fadlilatul Taufany, ST., Ph.D

.....(Penguji 2)

5. Dr. Lailatul Qadaryah, ST., M.T

.....(Penguji 3)



Surabaya, Januari 2017

Pengaruh Variasi *Pretreatment* Biologis pada Limbah Kulit Kopi Terhadap Proses Hidrolisa untuk Menghasilkan Gula Reduksi

Seiring dengan semakin pesatnya kegiatan agroindustri, semakin banyak produk samping pertanian yang dihasilkan dari aktivitas tersebut. Pada umumnya produk samping atau limbah pertanian merupakan bahan lignoselulosa. Biomassa lignoselulosa hampir sebagian besar menjadi hasil samping atau limbah kegiatan pertanian. Kulit kopi adalah limbah padat utama yang dihasilkan dari pengolahan kopi. Saat ini pemanfaatan kulit kopi belum optimal dan bernilai ekonomis tinggi. Oleh karena itu, pemanfaatan kulit kopi untuk menghasilkan gula reduksi merupakan salah satu upaya yang tepat untuk meningkatkan nilai ekonomisnya. Komposisi kimia limbah kulit buah kopi terdiri dari 57,9% (w/w) selulosa; 21,63% (w/w) hemiselulosa; 5,21% (w/w) lignin; dan 2,28% (w/w) pektin. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh variasi *pretreatment* biologis pada limbah kulit kopi terhadap proses hidrolisa untuk menghasilkan gula reduksi. Metode penelitian yang digunakan terdiri dari 2 tahap, yaitu tahap *pretreatment* kulit buah kopi secara biologis dan tahap hidrolisa limbah kulit buah kopi. Pada tahap *pretreatment* secara biologis, kulit buah kopi yang sudah berukuran 100 mesh didegradasi lignin dan pektinnya menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, dan *Trichoderma reesei*. Variabel yang digunakan ialah *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger* = 1:0; 1:1; 1:2; 2:1 (v/v), *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* = 0:1; 1:1; 1:2; 2:1 (v/v), dan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:0; 1:1; 1:2; 2:1 (v/v). Setelah melewati tahap *pretreatment*, hasil yang terbaik kemudian dihidrolisa menggunakan *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* dengan perbandingan 1:1; 1:2; dan 2:1(v/v) serta penambahan surfaktan PEG 4000 1:1 (w/w) terhadap kulit kopi. Kemudian,

kulit buah kopi yang sudah dihidrolisa dilakukan pengujian kadar glukosa, galaktosa, fruktosa dan xilosanya. Hasil pretreatment biologis terbaik didapatkan pada variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:1(v/v) menghasilkan selulosa sebesar 86.98%(w/w). Persen penurunan lignin dan pektin terbaik kedua adalah variabel *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* = 2:1(v/v) menghasilkan selulosa sebesar 81.61%(w/w). Hasil hidrolisa terbaik adalah variabel pretreatment *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* (1:1) (v/v) dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 2:1 (v/v) + Surfaktan menghasilkan gula total sebesar 20.04%. Sedangkan, variabel pretreatment *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* (2:1) (v/v) dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 1:2 (v/v) + Surfaktan menghasilkan gula total sebesar 14,7%.

Kata Kunci : Limbah kulit kopi, Metode Pretreatment Biologis, Lignin, Pektin, Hidrolisa.

Pengaruh Variasi *Pretreatment* Biologis pada Limbah Kulit Kopi Terhadap Proses Hidrolisa untuk Menghasilkan Gula Reduksi

Seiring dengan semakin pesatnya kegiatan agroindustri, semakin banyak produk samping pertanian yang dihasilkan dari aktivitas tersebut. Pada umumnya produk samping atau limbah pertanian merupakan bahan lignoselulosa. Biomassa lignoselulosa hampir sebagian besar menjadi hasil samping atau limbah kegiatan pertanian. Kulit kopi adalah limbah padat utama yang dihasilkan dari pengolahan kopi. Saat ini pemanfaatan kulit kopi belum optimal dan bernilai ekonomis tinggi. Oleh karena itu, pemanfaatan kulit kopi untuk menghasilkan gula reduksi merupakan salah satu upaya yang tepat untuk meningkatkan nilai ekonomisnya. Komposisi kimia limbah kulit buah kopi terdiri dari 57,9% (w/w) selulosa; 21,63% (w/w) hemiselulosa; 5,21% (w/w) lignin; dan 2,28% (w/w) pektin. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh variasi *pretreatment* biologis pada limbah kulit kopi terhadap proses hidrolisa untuk menghasilkan gula reduksi. Metode penelitian yang digunakan terdiri dari 2 tahap, yaitu tahap *pretreatment* kulit buah kopi secara biologis dan tahap hidrolisa limbah kulit buah kopi. Pada tahap *pretreatment* secara biologis, kulit buah kopi yang sudah berukuran 100 mesh didegradasi lignin dan pektinnya menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, dan *Trichoderma reesei*. Variabel yang digunakan ialah *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger* = 1:0; 1:1; 1:2; 2:1 (v/v), *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* = 0:1; 1:1; 1:2; 2:1 (v/v), dan *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:0; 1:1; 1:2; 2:1 (v/v). Setelah melewati tahap *pretreatment*, hasil yang terbaik kemudian dihidrolisa menggunakan *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* dengan perbandingan 1:1; 1:2; dan 2:1(v/v) serta penambahan surfaktan PEG 4000 1:1 (w/w) terhadap kulit kopi. Kemudian,

kulit buah kopi yang sudah dihidrolisa dilakukan pengujian kadar glukosa, galaktosa, fruktosa dan xilosanya. Hasil pretreatment biologis terbaik didapatkan pada variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* = 1:1(v/v) menghasilkan selulosa sebesar 86.98%(w/w). Persen penurunan lignin dan pektin terbaik kedua adalah variabel *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* = 2:1(v/v) menghasilkan selulosa sebesar 81.61%(w/w). Hasil hidrolisa terbaik adalah variabel pretreatment *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* (1:1) (v/v) dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 2:1 (v/v) + Surfaktan menghasilkan gula total sebesar 20.04%. Sedangkan, variabel pretreatment *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* (2:1) (v/v) dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 1:2 (v/v) + Surfaktan menghasilkan gula total sebesar 14,7%.

Kata Kunci : Limbah kulit kopi, Metode Pretreatment Biologis, Lignin, Pektin, Hidrolisa.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK INDONESIA.....	iv
ABSTRAK INGGRIS	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Judul.....	1
I.2 Latar Belakang.....	1
I.3 Rumusan Masalah.....	4
I.4 Batasan Masalah	4
I.5 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II.1 Limbah Kulit Kopi	5
II.2 Gula Reduksi	8
II.3 Lignoselulosa	9
II.4 Pretreatment Bahan	13
II.5 Hidrolisis	19
II.6 Penelitian Terdahulu.....	24
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
III.1 Kondisi Operasi.....	26
III.2 Variabel yang Digunakan.....	26
III.3 Parameter yang Dianalisa	27
III.4 Dimensi Alat	27
III.5 Bahan yang Digunakan	28
III.6 Metode Penelitian	28
III.7 Gambar Alat Penelitian.....	31
III.8 Diagram Alir	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
DAFTAR PUSTAKA	xiv

APPENDIKS A

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Kandungan Kulit Buah Kopi.....	8
Tabel IV.1	Komposisi Kulit Kopi.....	37
Tabel IV.2	Hasil Analisa Gula Reduksi Sebelum Hidrolisa	55
Tabel IV.3	Yield Hasil Hidrolisa Kulit Kopi dengan Rasio AN:TV	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Morfologi Buah Kopi	5
Gambar II.2	Kulit Daging Buah Kopi	7
Gambar II.3	Macam-Macam Gula Reduksi	9
Gambar II.4	Struktur Polimer Hemiselulosa.....	10
Gambar II.5	Struktur Bangun Selulosa	11
Gambar II.6	Struktur Polimer Lignin.....	12
Gambar II.7	Struktur Polimer Pektin	13
Gambar II.8	Koloni <i>Aspergillus N</i>	16
Gambar II.9	Koloni <i>Tricoderma R</i>	17
Gambar II.10	Koloni <i>Bacillus S</i>	18
Gambar III.1	Skema Alat <i>Fungal Treatment</i>	31
Gambar III.2	Alat <i>Fungal Treatment</i>	31
Gambar III.3	Skema Alat Hidrolisa	32
Gambar III.4	Alat Hidrolisa	32
Gambar IV.1.a	Konsentrasi Lignin Terhadap Waktu Pada BS:AN.....	38
Gambar IV.1.b	Perbesaran dari Gambar IV.1.a. pada Range konsentrasi 0 s/d 0.05%	38
Gambar IV.1.c	Konsentrasi Pektin Terhadap Waktu Pada BS:AN.....	40
Gambar IV.1.d	Perbesaran dari Gambar IV.1.c. pada Range konsentrasi 0 s/d 0.01%	40
Gambar IV.2.a	Konsentrasi Lignin Terhadap Waktu Pada BS:TR	42
Gambar IV.2.b	Perbesaran dari Gambar IV.2.a. pada Range konsentrasi 0 s/d 0.07%	42
Gambar IV.2.c	Konsentrasi Pektin Terhadap Waktu Pada BS:TR	43
Gambar IV.2.d	Perbesaran dari Gambar IV.2.c. pada Range konsentrasi 0 s/d 0.06%	44
Gambar IV.3.a	Konsentrasi Lignin Terhadap Waktu Pada AN:TR	45
Gambar IV.3.b	Perbesaran dari Gambar IV.3.a. pada Range konsentrasi 0 s/d 0.01%	46

Gambar IV.3.c	Konsentrasi Pektin Terhadap Waktu Pada AN:TR	47
Gambar IV.3.d	Perbesaran dari Gambar IV.3.c. pada Range konsentrasi 0 s/d 0.07%	47
Gambar IV.4	Persen Penurunan Lignin dan Pektin	49
Gambar IV.5.a	Konsentrasi Selulosa Pada Jam ke-168 Fungal Treatment	50
Gambar IV.5.b	Persen Kenaikan Selulosa	51
Gambar IV.5.c	Hasil Analisa XRD Kulit Kopi Sebelum dan Setelah Pretreatment Variabel BS:TR=2:1	53
Gambar IV.5.d	Hasil Analisa XRD Kulit Kopi Sebelum dan Setelah Pretreatment Variabel AN:TR=1:1	53
Gambar IV.6.a	Hasil Total Gula Reduksi Setelah Hidrolisa Dari Variabel Pretreatment Variabel Terbaik BS:TR=2:1	55
Gambar IV.6.b	Hasil Total Gula Reduksi Setelah Hidrolisa Dari Variabel Pretreatment Variabel Terbaik AN:TR=1:1	56
Gambar IV.6.c	Hasil Total Gula Reduksi Setelah Hidrolisa Dari Dua Variabel Pretreatment Terbaik BS:TR=2:1 dan AN:TR=1:1	58

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Judul

Judul penelitian yang akan kami lakukan adalah **“Pengaruh Variasi Pretreatment Biologis pada Limbah Kulit Kopi Terhadap Proses Hidrolisa untuk Menghasilkan Gula Reduksi”**

I.2 Latar Belakang

Seiring dengan semakin pesatnya kegiatan agroindustri, semakin banyak produk samping pertanian yang dihasilkan dari aktivitas tersebut. Pada umumnya produk samping atau limbah pertanian merupakan bahan lignoselulosa. Biomassa lignoselulosa hampir sebagian besar menjadi hasil samping atau limbah kegiatan pertanian mulai dari pra-panen, pasca panen sampai dengan aktivitas pengolahan pangan (Mtui, GYS, 2009). Lignoselulosa merupakan limbah biomass tanaman yang tersusun atas selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Komponen selulosa, hemiselulosa, dan lignin tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku dalam berbagai industri pangan, pakan, tekstil, kertas, kompos atau bioetanol. Menurut (Foyle, A.s Jennings L and Mulcahy P, 2007) lignoselulosa dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan berbagai produk yang bernilai ekonomis.

Kulit kopi adalah limbah padat utama yang dihasilkan dari penanganan dan pengolahan kopi. Saat ini pemanfaatan kulit kopi belum optimal dan bernilai ekonomis tinggi, karena pada umumnya petani menjual limbah tersebut dengan harga murah untuk pakan ternak. Padahal jumlah produk samping ini sangat melimpah karena produktivitas tanaman kopi di Indonesia cukup tinggi. Menurut (Kementrian Perindustrian RI, 2016), luas areal perkebunan kopi Indonesia saat ini mencapai 1,2 juta hektar. Dari luas areal tersebut, 96% merupakan lahan perkebunan kopi rakyat dan sisanya 4% milik perkebunan swasta dan Pemerintah (PTP Nusantara). Oleh karena itu, produksi kopi Indonesia sangat tergantung oleh perkebunan rakyat. Dari luas areal perkebunan

kopi, luas areal yang menghasilkan (produktif) mencapai 920 hektar (sekitar 77%). Luas areal perkebunan kopi, dari tahun ke tahun semenjak tahun 1960 terus menunjukkan peningkatan khususnya pada perkebunan kopi rakyat. Sebaliknya pada perkebunan swasta dan perkebunan negara tidak menunjukkan perkembangan yang berarti. Produksi kopi Indonesia dalam tahun 2012 mencapai 750.000 ton. Dalam proses pengolahan biji kopi menjadi bubuk kopi tersebut, menghasilkan limbah berupa limbah kulit kopi dimana limbah kulit kopi ini memiliki potensial untuk dikembangkan sebagai sumber lignoselulosa, karena dalam produksinya setiap kilogram biji kopi, diperkirakan dihasilkan 1 kg kulit kopi.

Menurut (Widyotomo, Sukrisno, 2013) bentuk diversifikasi produk yang dapat dihasilkan dari limbah kulit kopi ialah papan partikel, ameliorant tanah, media tanam, kompos organik, minuman dengan kadar gula tinggi, pakan ternak, bioetanol, biodiesel, biogas, bahan bakar sumber panas proses pengeringan dan lain-lain. Pemanfaatan kulit kopi sebagai bioetanol merupakan salah satu upaya yang tepat untuk meningkatkan nilai ekonomis. Hal ini karena penggunaan etanol dalam industri semakin luas, tidak hanya sebagai bahan pelarut, farmasi, kosmetik, atau bahan pengawet, tetapi sekarang dikembangkan juga sebagai bahan bakar nabati alternatif pengganti bensin (BBN). Selain itu pengembangan pemanfaatan kulit kopi sebagai bahan baku bioetanol tidak bersaing dengan bahan baku sumber pangan yang mengandung gula dan pati, seperti nira tebu, nira aren, ubi kayu, ubi jalar, jagung atau sagu.

Pretreatment merupakan suatu elemen penting dalam biokonversi substrat lignoselulosa. Lignoselulosa merupakan senyawa gabungan dari selulosa, hemiselulosa, lignin, dan pektin. Adanya lignin dan pektin dalam komponen penyusun kulit kopi menyebabkan selulosa sulit untuk dihidrolisa. Oleh karena itu, perlu dilakukan pretreatment untuk degradasi lignin dan pektin. Pretreatment biologis merupakan metode pretreatment dengan memanfaatkan mikroorganisme dimana metode ini memerlukan

energi yang rendah dan aman bagi lingkungan. *Bacillus sp* merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk mendegradasi pektin (Tariq, anam and Latif, Zakia, 2012). *Trichoderma reesei* merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk mendegradasi lignin. *Aspergillus niger* merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk mendegradasi lignin dan pektin.

Sejalan dengan perkembangan bioteknologi, pemanfaatan mikroba dalam proses biokonversi limbah lignoselulosa dapat dilakukan guna mendapatkan nilai tambah menjadi produk lain. Proses hidrolisis selulosa dilakukan dengan bantuan bakteri selulolitik telah terbukti ekonomis untuk konversi selulosa menjadi gula terfermentasi dan bahan bakar etanol. Proses hidrolisis ini lebih disukai karena ramah lingkungan walaupun laju hidrolisisnya rendah. *Aspergillus niger* merupakan salah satu jamur yang memiliki aktivitas spesifik cellulase tertinggi. Jenis mikroba yang lain yang telah dikenal luas menghasilkan enzim-enzim pemecah material selulosik adalah *Trichoderma viride*.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk menghasilkan gula reduksi dari kulit kopi dengan memanfaatkan komponen selulosa maupun hemiselulosanya, dimana gula reduksi ini merupakan bahan utama yang difermentasikan untuk menghasilkan bioetanol. Namun, pada komposisi kimia kulit kopi mengandung kadar lignin cukup tinggi yang dapat mempengaruhi dalam hal pembentukan ikatan antar serat dan menghambat kerja enzim dalam mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Sugesty, 1986). Proses pretreatment bertujuan mempermudah akses enzim selulase untuk menghidrolisa selulosa dan hemiselulosa selain itu proses pretreatment bertujuan untuk menurunkan kadar lignin dan pektin. Selulosa dan hemiselulosa yang telah melewati proses pretreatment kemudian dihidrolisa menjadi glukosa dan xilosa menggunakan *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* serta penambahan surfaktan PEG 4000. Surfaktan ini berfungsi untuk meningkatkan aktivitas enzim pada hidrolisa (Ferreira et al, 2009).

I.3 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Perlu dipelajari pemanfaatan limbah kulit buah kopi agar menghasilkan produk yang ramah lingkungan serta memiliki nilai ekonomis tinggi.
2. Ketersediaan limbah kulit kopi yang mengandung lignoselulosa sangat melimpah di Indonesia dimana pemanfaatan dari limbah kulit kopi yang mengandung selulosa dan hemiselulosa yang tinggi belum optimal.
3. Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* serta penambahan PEG 4000.

I.4 Batasan Masalah

Agar penelitian ini tidak menyimpang dari ketentuan yang digariskan maka diambil batasan dan asumsi sebagai berikut :

1. Bahan baku yang digunakan adalah limbah kulit kopi yang mengandung lignoselulosa.
2. Pretreatment limbah kulit kopi secara biologis menggunakan bakteri *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, dan *Trichoderma reesei*.
3. Proses pembuatan gula reduksi dengan hidrolisa menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* serta penambahan surfaktan PEG 4000.

I.5 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang disampaikan di atas, maka tujuan penelitian adalah sebagai berikut :

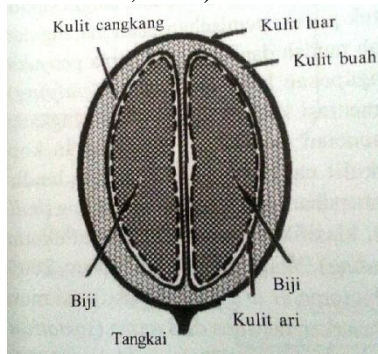
1. Mengetahui hasil pretreatment biologis terbaik menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, dan *Trichoderma resei* untuk mendegradasi lignin dan pektin yang terkandung dalam limbah kulit kopi.
2. Mengetahui hasil hidrolisa limbah kulit kopi yang telah di treatment dengan menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* serta penambahan surfaktan PEG 4000 untuk menghasilkan gula reduksi yang terbaik

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Limbah Kulit Kopi

Buah kopi terdiri dari epikarp yang disebut juga dengan kulit buah, merupakan bagian terluar dari buah kopi, mesokarp disebut juga dengan daging kulit merupakan bagian yang beragak manis dan mempunyai kandungan air yang cukup tinggi, endokarp atau kulit tanduk merupakan kulit kopi paling keras tersusun oleh selulosa dan hemiselulosa, spermoderm disebut dengan kulit ari merupakan kulit yang paling tipis dan menempel pada kulit kopi dan endosperm atau keping biji, merupakan bagian buah kopi yang diambil dimanfaatkan untuk diolah menjadi kopi bubuk (Bressani et. al., 1972).



Gambar 0.1 Morfologi Buah Kopi

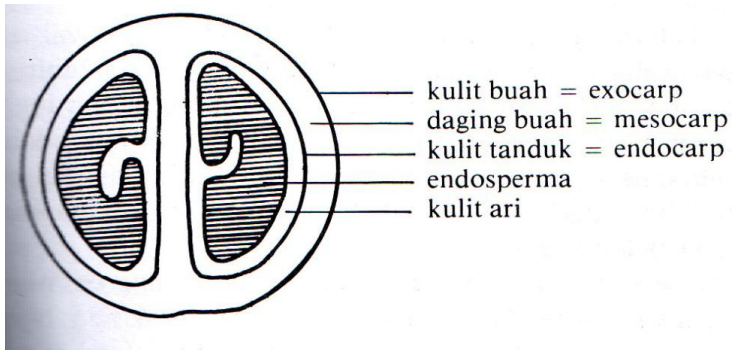
(Widyotomo, 2013)

Pada penelitian ini, bahan baku yang digunakan adalah limbah kulit kopi hasil dari pengolahan kopi dari biji utuh menjadi kopi bubuk. Proses pengolahan kopi ada 2 macam, yaitu (1) Pengolahan kopi merah/masak dan (2) Pengolahan kopi hijau/mentah. Pengolahan kopi merah diawali dengan pencucian dan perendaman serta pengupasan kulit luar, proses ini menghasilkan 65% biji kopi dan 35% limbah kulit kopi. Limbah kopi sebagian besar dimanfaatkan sebagai pupuk pada tanaman

kopi dan tanaman disekitarnya, sebagian kecil digunakan sebagai media budidaya jamur serta dimanfaatkan sebagai bahan jamu tradisional. Biji kopi kemudian dikeringkan dengan oven dan hasilnya adalah biji kopi kering oven sebanyak 31%, kemudian kopi ini digiling dan menghasilkan 21% beras kopi (kopi bubuk) dan 10% berupa limbah kulit dalam. Limbah yang dihasilkan dari proses ini (kulit dalam) pada umumnya dimanfaatkan sebagai pupuk, namun sebagian diantaranya dimanfaatkan oleh pengrajin jamu tradisional sebagai bahan jamu (Muryanto dkk, 2004).

Pengolahan kopi secara basah akan menghasilkan limbah padat berupa kulit buah pada proses pengupasan buah (*pulping*) dan kulit tanduk pada saat penggerbusan (*hulling*). Limbah padat kulit buah kopi (*pulp*) belum dimanfaatkan secara optimal, umumnya ditumpuk di sekitar lokasi pengolahan selama beberapa bulan, sehingga timbulnya bau busuk dan cairan yang mencemari lingkungan. Limbah kulit buah kopi memiliki kadar bahan organik dan unsur hara yang memungkinkan untuk memperbaiki tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar C-organik kulit buah kopi adalah 45,3 %, kadar nitrogen 2,98 %, fosfor 0,18 % dan kalium 2,26 %. Selain itu kulit buah kopi juga mengandung unsur Ca, Mg, Mn, Fe, Cu dan Zn. Dalam 1 ha areal pertanaman kopi akan memproduksi limbah segar sekitar 1,8 ton setara dengan produksi tepung limbah 630 kg (Dirjen Perkebunan, 2008).

Kulit kopi terdiri dari 3 (tiga) bagian, yaitu : 1). Lapisan bagian luar tipis yakni yang disebut "Exocarp"; lapisan ini kalau sudah masak berwarna merah. 2). Lapisan Daging buah; daging buah ini mengandung serabut yang bila sudah masak berlendir dan rasanya manis, maka sering disukai binatang kera atau musang. Daging buah ini disebut "Mesocarp". 3). Lapisan Kulit tanduk atau kulit dalam; kulit tanduk ini merupakan lapisan tanduk yang menjadi batas kulit dan biji yang keadaannya agak keras. Kulit ini disebut "Endocarp".



Gambar 0.2 Kulit Daging Buah Kopi

(AAK, 1988)

Kulit buah kopi merupakan limbah dari pengolahan buah kopi untuk mendapatkan biji kopi yang selanjutnya digiling menjadi bubuk kopi. Kandungan zat makanan kulit buah kopi dipengaruhi oleh metode pengolahannya apakah secara basah atau kering seperti terlihat pada Tabel II.1. Kandungan zat makanan kulit buah kopi berdasarkan metode pengolahan. Pada metode pengolahan basah, buah kopi ditempatkan pada tanki mesin pengupas lalu disiram dengan air, mesin pengupas bekerja memisahkan biji dari kulit buah. Sedangkan pengolahan kering lebih sederhana, biasanya buah kopi dibiarkan mongering pada batangnya sebelum dipanen. Selanjutnya langsung dipisahkan biji dan kulit buah kopi dengan menggunakan mesin.

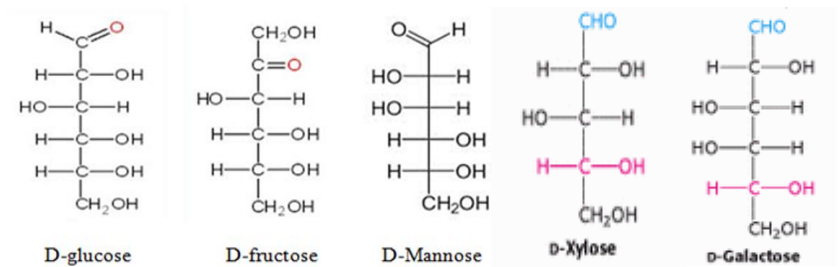
Tabel 0.1 Kandungan Kulit Buah Kopi

No	Kandungan	Prosentase (%)
1	Selulosa	63
2	Hemiselulosa	2,3
3	Lignin	17
4	Protein	11,5
5	Tanin	1,8-8,56
6	Pektin	6,5

(Grisel Corro et. al., 2013)

II.2 Gula Reduksi

Gula reduksi adalah gula yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi. Hal ini dikarenakan adanya gugus aldehid sangat mudah dioksidasi menjadi suatu gugus karbonil. Contoh gula yang termasuk gula reduksi adalah glukosa, manosa, fruktosa, laktosa, maltosa dan lain-lain. Sedangkan yang termasuk dalam gula non reduksi adalah sukrosa. Umumnya gula pereduksi yang dihasilkan berhubungan erat dengan aktifitas enzim, dimana semakin tinggi aktifitas enzim maka semakin tinggi pula gula pereduksi yang dihasilkan. Gula reduksi pada tumbuhan adalah gula sisa fosil fotosintesis yang disimpan dalam jaringan. Jumlah gula pereduksi yang dihasilkan selama reaksi diukur dengan menggunakan pereaksi asam dinitro salisilat / dinitrosalicylic acid (DNS) pada panjang gelombang 540 nm. Semakin tinggi nilai absorbansi yang dihasilkan, maka semakin banyak gula pereduksi yang terkandung.



Gambar 0.3 Macam-Macam Gula Reduksi

II.3 Lignoselulosa

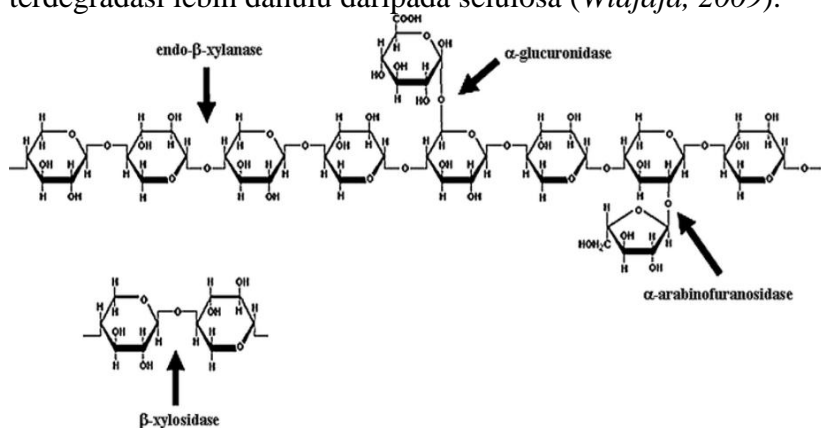
A. Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan oligosakarida yang tersusun dari pentosa dan heksosa. Pentosa merupakan komponen yang lebih besar, yang sebagian besar merupakan manosa dan glaktosa. Sedangkan selulosa merupakan rantai panjang yang tersusun dari satuan-satuan β -D-glucose yang dihubungkan ikatan 1,4. Penggabungan molekul β -D-glucose membentuk selobiosa yang selanjutnya bergabung bersama membentuk rantai molekul lebih dari 5.000 unit glukosa (Witono Basuki, 2012).

Hemiselulosa (atau polyose) terutama terdiri dari xilan, sebuah polimer bercabang terdiri dari gula lima karbon, xylose. Khas derajat polimerisasi hemiselulosa adalah 50-200, yang lebih pendek dari molekul selulosa. Hidrolisis asam hemiselulosa, $(C_6H_{10}O_5)_n$, menghasilkan terutama xilosa $(C_6H_{10}O_5)$, yang dapat dikonversi ke furfural, bahan baku kimia, atau dapat difermentasi untuk etanol. (Dutta, 2008).

Struktur polimer hemiselulosa ditunjukkan pada Gambar II.4 Hemiselulosa berfungsi mendukung dalam dinding-dinding sel dan sebagai perekat. Dengan derajat

polimerisasi hanya 200, maka hemiselulosa akan terdegradasi lebih dahulu daripada selulosa (Widjaja, 2009).



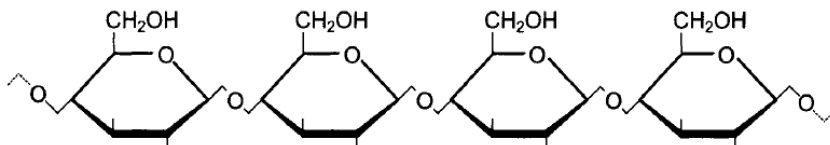
Gambar 0.4 Struktur Polimer Hemiselulosa

B. Selulosa

Selulosa adalah penyusun dinding sel utama pada kayu yang relatif konstan. Kayu memiliki rata-rata 43% selulosa, dengan kayu lunak umumnya memiliki 2% -3% lebih sedikit selulosa. Selulosa didefinisikan sebagai polimer linear unit anhidroglukosa dengan semua glikosidik antara unit monomer menjadi β -1,4 (H.A. schroeder et. al., 1985).

Selulosa merupakan salah satu dari tiga komponen struktural utama dari semua dinding sel tanaman dengan dua komponen lainnya, hemiselulosa dan lignin. Selulosa adalah senyawa organik yang paling melimpah dari alam di muka bumi. Hidrolisis lengkap selulosa memberikan glukosa. Molekul selulosa terdiri dari rantai panjang molekul ditunjukkan pada Gambar II.5. Berat molekul selulosa berkisar dari 300.000 sampai 500.000 (1.800 ke 3.000 unit glukosa). Pencernaan sistem manusia dan kebanyakan hewan lainnya (kecuali ruminansia) tidak mengandung

enzim yang diperlukan (selulase) untuk hydrolyzmg β -glukosida hubungan. Namun, selulase ditemukan di ruminansia, berbagai serangga, jamur, ganggang, dan bakteri. (Dutta, 2008).



Gambar 0.5 Struktur Bangun Selulosa

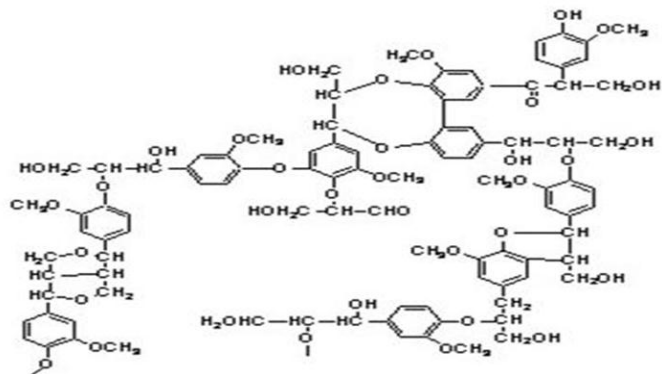
Selulosa berfungsi sebagai penguat pada batang tumbuhan, lignin untuk melindungi selulosa dari aksi kimiawi maupun biologis sedangkan hemiselulosa pengikat selulosa dengan lignin (Lee, 1992). Selulosa berupa polimer glukosa linier hidrofilik yang dihubungkan oleh ikatan glikosida. Banyaknya satuan glukosa dapat bervariasi antara 15 sampai lebih dari 10.000 per molekul selulosa. Polimer selulosa terdiri dari bagian kristalin dan amorf. Bagian amorf mudah dihidrolisis sedangkan bagian kristalin tidak mudah dihidrolisis baik secara kimiawi maupun enzimatik (Dahot dan Noomrio, 1996).

C. Lignin

Lignin merupakan polimer yang strukturnya heterogen dan kompleks yang terdiri dari koniferil alkohol, sinaphil alkohol, dan kumaril alkohol sehingga sulit untuk dirombak. Sekitar 30% material pohon adalah lignin yang berfungsi sebagai penyedia kekuatan fisik pohon, pelindung dari biodegradasi dan serangan mikroorganisme (Schlegel, 1994; Singh, 2006).

Berdasarkan istilah pada lignin tidak dapat dianggap sebagai salah satu yang didefinisikan secara individual senyawa, melainkan sebagai istilah kolektif untuk seluruh rangkaian yang sama, molekul polimer besar yang erat terkait secara struktural satu sama lain. Kompleksitas kimia struktur lignin membuatnya sangat sulit untuk memanfaatkan kecuali sebagai bahan bakar (Dutta, 2008).

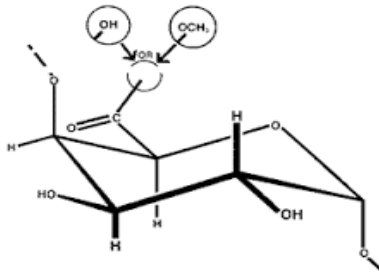
Struktur polimer lignin ditunjukkan pada Gambar II.6. Menurut Muthuvelayudam dan Viruthagiri (2006), meskipun dilindungi oleh lignin, jerami padi masih dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh mikroorganisma selulolitik seperti *Trichoderma reesei* maupun *Aspergillus niger* (Aderemi et. al., 2008).



Gambar 0.6 Struktur Polimer Lignin

D. Pektin

Pektin merupakan campuran polisakarida dengan komponen utama polimer asam α -D-galakturonat yang mengandung gugus metil ester pada konfigurasi atom C-2 (Hoejgaard 2004). Komponen minor berupa polimer unit-unit α -L-arabinofuranosil bergabung dengan ikatan α -L-(1-5). Komponen minor lainnya adalah rantai lurus dari unit-unit β -D-galaktopiranosil yang mempunyai ikatan 1-4.



Gambar 0.7 Struktur Polymer Pektin

Menurut Nussinovitch (1997), komponen utama dari senyawa pectin adalah asam D-galakturonat tetapi terdapat juga D-galaktosa, L-arabinosa, dan L-ranmusa dalam jumlah yang beragam dan kadang terdapat gula lain dalam jumlah kecil. Beberapa gugus karboksilnya dpat teresterifikasi dengan methanol. Polymer asam anhidrolaktronat tersebut dapat merupakan rantai lurus atau tidak bercabang.

Dalam SNI disebut bahwa pectin merupakan zat berbentuk serbuk kasar hingga halus yag berwarna putih kekuningan, tidak berbau, dan memiliki rasa seperti lender. Glicksman (1969) menyebutkan pectin kering yang telah dimurnikan berupa Kristal yang berwarna putih dengan kelarutan yang berbeda-beda sesuai dengan kandungan metoksilnya.

Pektin bersifat asam dan koloidnya bermuatan negatif karena adanya gugus bermuatan negatif karena adanya gugus karboksil bebas. Larutan 1% pectin yang tidak ternetralkan akan memberikan pH 2,0-4,0. Pada pH lebih dari 4,0 atau kurang dari 2,0 viskositas dan kekuatan gelnya akan berkurang karena terjadi depolimerisasi rantai pectin. Pectin dapat mengalami saponifikasi dan degradasi melalui reaksi β -eliminasi pada kondisi basa (Nelson et.al. 1977).

II.4 Proses Pretreatment Bahan yang Mengandung Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan senyawa gabungan dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Pretreatment suatu biomassa biasanya dibutuhkan pada suatu proses operasi untuk mendapatkan glukosa dengan yield yang tinggi. Hambatan utama dalam hidrolisis selulosa adalah gangguan dari kandungan lignin (yang

menggabungkan serat selulosa bersama-sama) dan mengatur struktur kristal dari selulosa (Dutta, 2008). Perlu dilakukan pretreatment untuk memperlancar proses hidrolisis.

Pretreatment Secara Biologi

Sebagian mikroorganisme dapat menguraikan selulose melalui enzim selolitik, namun hanya sebagian kecil yang dapat menguraikan cellulose dalam bentuk Kristal. Dalam proses pretreatment secara biologis untuk menguraikan lignocellulose, microorganism seperti *brown-rot*, *white-rot*, dan *soft-rot* fungi digunakan untuk mendegradasi lignin, hemicellulose, pectin, dan cellulose dalam limbah.

White-rot fungi yang efektif untuk pretreatment biologi berasal dari kelompok *Basidiomycetes*. Pada umumnya *white-rot* fungi *Basidiomycetes* dikenal sebagai organisme yang hanya mampu mendegradasi lignin menjadi CO₂ dan H₂O, namun sebenarnya organisme ini mampu mendegradasi 3 polymer utama dalam tumbuhan yaitu : lignin, cellulose dan hemicellulose (Hattaka, 1994, 2001).

White-rot fungi terdapat pada kelompok *Basidimycetes* dan *Ascomycetes*. Kapang ini dapat mendegradasi lignin secara lebih cepat dan ekstensif dibandingkan mikroorganisme lain. Substrat bagi pertumbuhan mikroorganisme ini adalah selulosa dan hemiselulosa dan degradasi lignin terjadi pada akhir pertumbuhan primer melalui metabolisme sekunder dalam kondisi defisiensi nutrient seperti nitrogen, karbon atau sulfur (Hatakka 2001).

Pretreatment biologi merupakan metode yang memerlukan energi yang rendah dan aman bagi lingkungan. Akan tetapi sebagian besar laju hidrolisa berlangsung lambat. Faktor utama yang pendukung fungal pretreatment antara lain adalah aerasi, ratio carbon – nitrogen dan *moisture level*. Kondisi tersebut tergantung dari biomass dan organisme. Fungi memerlukan udara dalam jumlah tertentu untuk menstabilkan ikatan lignocellulose. Carbon dan nitrogen (ratio C : N) digunakan untuk meningkatkan massa sel fungsi (*fungal growth*). Sedangkan *moisture level* atau

water activities dibutuhkan untuk mendukung fungal pretreatment dan menghambat pertumbuhan bakteri (Keller et al., 2003). Temperatur pemecah lignin dengan menggunakan fungi berkisar 27 - 40°C dan pH berkisar 2 - 7 sesuai dengan jenis *white-rot* fungi yang digunakan.

White-rot fungi dari kelas Basidiomycetes, merupakan organisme yang bekerja efisien dan efektif dalam proses degradasi lignin dan pektin. Proses degradasi lignin ini dimulai saat *white-rot* fungi menembus dan membuka koloni dalam sel kulit kopi, lalu mengeluarkan enzim yang berdifusi melalui lumen dan dinding sel. Jamur ini menyerang komponen lignin dan pektin dari kulit kopi hingga menyisakan selulosa dan hemiselulosa yang tidak terlalu berpengaruh. Akibatnya terjadi penurunan kekuatan fisik kulit kopi dan pembengkakan jaringan kulit kopi. (Sigit, 2009)

White-rot fungi mendegradasi lignin dan pectin karena mampu mensintesis enzim ligninase. Ada tiga enzim ligninase dari kapang yaitu lignin peroxidase (LiP), mangan peroxidase (MnP), dan laccase. Beberapa kapang ada yang hanya mampu mensintesis dua atau satu enzim saja (Singh, 2006). *white-rot* fungi merupakan mikroorganisme yang paling aktif dalam pendegradasi lignin dan pectin, yang menghasilkan CO₂ dan H₂O dalam mendegradasi lignin dan pectin. Beberapa kelompok kapang yang telah diketahui kemampuannya dalam mendegradasi lignin dan pectin yaitu *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Basillus subtilis* serta *Tricoderma sp* (Sintawardani, 1997). *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium solani* (Grainger & Lynch, 1984), dan *Fusarium oxysporum* (Singh, 2006).

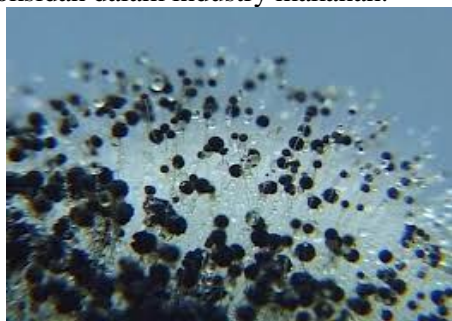
Aspergillus niger

Aspergillus niger merupakan fungi dari filum *ascomycetes* yang berfilamen, mempunyai hifa bersepat, dan dapat ditemukan melimpah dialam. Fungi ini biasanya diisolasi dari tanah, sisa tumbuhan, dan udara di dalam ruangan. Koloninya berwarna putih pada Agar Gekstrosa Kentang (PDA)

25°C dan berubah menjadi hitam ketika konidia dibentuk. Kepala konidia dari *A.niger* berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang longgar seiring dengan bertambahnya umur. *A.niger* dapat tumbuh optimum pada suhu 35 - 47°C dengan suhu minimum 6 - 8°C, dan suhu maksimum 45 - 47°C. selain itu, dalam proses pertumbuhannya fungi ini memerlukan oksigen yang cukup (aerobic). (Frazier dan Westhoff 1981) dengan pH 2-5 (Microbewiki, 2013)

Dalam metabolisme *A.niger* dapat menghasilkan asam sitrat sehingga fungi ini banyak digunakan sebagai model fermentasi karena fungi ini tidak menghasilkan mikotoksin sehingga tidak membahayakan. *A.niger* dapat tumbuh dengan cepat, oleh karena itu *A.niger* banyak digunakan secara komersial dalam produksi asam nitrat, asam glukonat, dan pembuatan beberapa enzim seperti *amilase*, *pectinase*, *amiloglukosidase*, dan *selulase*.

Selain itu, *A.niger* juga menghasilkan *galic acid* yang merupakan senyawa fenolik yang biasa digunakan dalam industri farmasi dan juga dapat menjadi substrat untuk memproduksi senyawa antioksidan dalam industri makanan.



Gambar II.8 Koloni *Aspergillus niger*

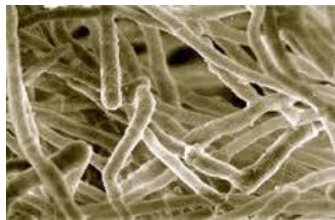
Trichoderma reesei

Trichoderma reesei adalah jamur mesofilik yang termasuk dalam jenis jamur berbentuk filamen. *T. reesei* memiliki kemampuan mensekresikan sejumlah besar enzim selulolitik,

seperti selulase dan hemiselulase. Komponen utama dari sistem selulase *T. reesei* adalah kedua jenis enzim selobiohidrolasenya, yaitu CBHI dan CBHII, yang berjumlah total 80% dari total protein selulase yang dihasilkan (Lynd, et al. 2002).

Trichoderma reesei dapat ditemui di hampir semua jenis tanah dan pada berbagai habitat. Jamur ini dapat berkembang biak dengan cepat pada daerah perakaran *Trichoderma reesei* tumbuh pada kisaran suhu optimal 25-32°C dengan pH 4-5,5. Di samping itu *Trichoderma reesei*. merupakan jamur parasit yang dapat menyerang dan mengambil nutrisi dari jamur lain. Peranan *Trichoderma reesei* yang mampu menyerang jamur lain namun sekaligus berkembang baik pada daerah perakaran menjadikan keberadaan jamur ini dapat berperan sebagai *biocontrol* dan memperbaiki pertumbuhan tanaman.

Trichoderma reesei merupakan kelompok jamur tanah sebagai penghasil selulase yang paling efisien (Davidek *et al.*, 1990). Keuntungan jamur tersebut sebagai sumber selulase adalah menghasilkan selulase lengkap dengan semua komponen-komponen yang dibutuhkan untuk hidrolisis total selulosa kristal dan protein selulosa yang dihasilkan cukup tinggi. *Trichoderma reesei* merupakan jamur mesofilik dan berfilamen. Jamur tersebut merupakan anamorp dari jamur *Hypocrea jecorina*. *Trichoderma reesei* memiliki kapasitas yang besar sebagai penghasil enzim cellulolytic (selulosa dan hemiselulosa). Mikrobial selulosa yang dimiliki dapat diaplikasikan dalam bidang industry untuk mengubah selulosa dari gabungan komponen biomassa tanaman menjadi glukosa.

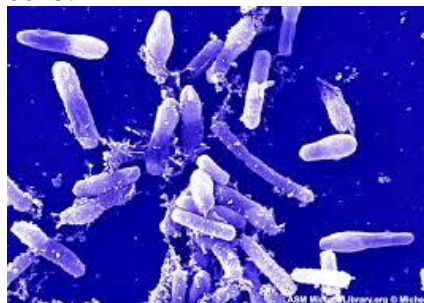


Gambar II.9 Koloni *Trichoderma reesei*

Bacillus Subtilis

Bacillus subtilis termasuk jenis *Bacillus*. Bakteri ini termasuk bakteri gram positif, katalase positif yang umum ditemukan di tanah. *Bacillus subtilis* mempunyai kemampuan untuk membentuk endospora yang protektif yang memberi kemampuan bakteri tersebut mentolerir keadaan yang ekstrim. Tidak seperti species lain seperti sejarah, *Bacillus subtilis* diklasifikasikan sebagai obligat anaerob walau penelitian sekarang tidak benar. *Bacillus subtilis* tidak dianggap sebagai patogen walaupun kontaminasi makanan tetapi jarang menyebabkan keracunan makanan. Sporangya dapat tahan terhadap panas tinggi yang sering digunakan pada makanan dan bertanggung jawab terhadap kerusakan pada roti.

Bacillus subtilis selnya berbentuk basil, ada yang tebal dan yang tipis. Biasanya bentuk rantai atau terpisah. Sebagian motil dan adapula yang non motil. Semua membentuk endospora yang berbentuk bulat dan oval. *Baccillus subtlis* merupakan jenis kelompok bakteri termofilik yang dapat tumbuh pada kisaran suhu 45°C – 55°C dan mempunyai pertumbuhan suhu optimum pada suhu 60°C – 80°C.



Gambar II.10 Koloni *Bacillus subtilis*

II.5 Hidrolisis

Hidrolisis merupakan proses pemecahan suatu senyawa menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan molekul air (Othmer,1967).

Jenis hidrolisis ada lima macam yaitu sebagai berikut:

1. Hidrolisis murni

Pada proses ini hanya melibatkan air saja, proses ini tidak dapat menghidrolisis secara efektif karena reaksi berjalan lambat, hidrolisis murni ini biasanya hanya untuk senyawa yang sangat reaktif dan reaksi dapat dipercepat dengan memakai uap air.

2. Hidrolisis dengan larutan asam

Hidrolisis ini menggunakan larutan asam sebagai katalis, larutan asam yang digunakan dapat encer atau pekat seperti H_2SO_4 atau HCl .

3. Hidrolisis dengan larutan basa

Hidrolisis ini menggunakan larutan basa encer maupun pekat sebagai katalis, basa yang digunakan pada umumnya adalah $NaOH$ atau KOH , selain berfungsi sebagai katalis, larutan basa pada proses hidrolisis berfungsi untuk mengikat asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke kanan.

4. Alkali fusion

Hidrolisis ini dilakukan tanpa menggunakan air pada suhu tinggi, misalnya dengan menggunakan $NaOH$ padat.

5. Hidrolisis dengan enzim

Hidrolisis ini dilakukan dengan menggunakan enzim sebagai katalis, enzim yang digunakan dihasilkan dari mikroba seperti enzim α -amylase yang diperoleh dari *Bacillus subtilis* menghidrolisis pati dengan hasil utama maltoheksosa, maltopentosa, dan sedikit glukosa 4-5% (Groggins,1958).

6. Hidrolisis dengan mikroorganisme

Proses hidrolisis yang biasa digunakan adalah hidrolisis asam karena lebih mudah dilakukan, namun kelemahannya yaitu dihasilkan produk samping yang dapat mengganggu dalam proses fermentasi (Subekti, 2006). Sehingga alternatif terbaik dalam proses hidrolisis yaitu dengan menggunakan hidrolisis enzim, dimana selulosa akan dikonversi menjadi glukosa oleh enzim selulase. Hidrolisis dengan enzim komersial membutuhkan biaya yang mahal, sehingga diperlukan suatu metode yang tepat, efisien dan murah. Metode tersebut yaitu memanfaatkan kapang yang dapat menghasilkan enzim selulase dimana selama ini jarang dilakukan.

Mikroorganisme penghasil selulase tersebut menghasilkan enzim dari proses hidrolisa selulosa akan melepaskan glukosa yang digunakan untuk pertumbuhan sel dan membentuk produk pada kondisi lingkungan yang terkontrol. Lebih dari 14.000 spesies kapang telah diketahui dapat mendegradasi selulosa (Esterbauer *et al.*, 1991). Contoh yang menghasilkan xylanase adalah *Basillus sp*, *Aspergillus niger*, dan *Pseudomona* sedangkan penghasil selulase *Trichoderma viride* dan *Trichoderma longibrachiatum*. Spesies yang banyak digunakan sebagai penghasil selulase antara lain *Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. reesei*, dan *T. konigii* (Saddler, 1982; Deschamps, 1985; Macris, 1985; Hawary *et al.*, 2001).

Aspergillus niger

Menurut Gugnani (2003), genus *Aspergillus sp* pada umumnya bereproduksi secara aseksual, dapat mendegradasi sejumlah komponen organik gula, asam lemak, protein, selulosa, pectin, dan xylan.

Trichoderma viride

Trichoderma viride adalah salah satu jamur tanah yang tersebar luas (kosmopolitan), yang hampir dapat ditemui di lahan-lahan pertanian dan perkebunan. *Trichoderma viride* bersifat saprofit pada tanah, kayu, dan beberapa jenis bersifat parasit pada jamur lain. *Trichoderma viride* merupakan jenis yang paling banyak dijumpai diantara genusnya dan mempunyai kelimpahan yang tinggi pada tanah dan bahan yang mengalami dekomposisi

Pada spesies saprofit, kapang tumbuh pada kisaran suhu optimal 22-30°C. Sedangkan menurut Enari (1983), suhu optimal untuk pertumbuhan kapang ini adalah 32-35°C dan pH optimal sekitar 4.0.

Trichoderma viride adalah salah satu jenis jamur yang dapat menghasilkan selulase. Kapang selulolitik yang cukup baik memproduksi enzim selulolitik adalah *Trichoderma viride*. *Trichoderma viride* bisa juga dikatakan sebagaimikroorganisme yang mampu menghancurkan selulosa tingkat tinggi dan memiliki kemampuan mensintesis beberapa faktor esensial untuk melarutkan bagian selulosa yang terikat kuat dengan ikatan hidrogen. Ada juga yang mengatakan bahwa *Trichoderma viride* merupakan jamur yang potensial memproduksi selulase dalam jumlah yang relatif banyak untuk mendegradasi selulosa. *Trichoderma viride* merupakan kelompok jamur selulolitik yang dapat menguraikan glukosa dengan menghasilkan enzim kompleks selulase. Enzim ini berfungsi sebagai agen pengurai yang spesifik untuk menghidrolisis ikatan kimia dari selulosa dan turunannya. *Trichoderma viride* dan *Trichoderma reesei* merupakan kelompok jamur tanah sebagai penghasil selulase yang paling efisien. Enzim selulase yang dihasilkan *Trichoderma viride* mempunyai kemampuan dapat memecah selulosa menjadi glukosa sehingga mudah dicerna oleh ternak. Selain itu *Trichoderma viride* mempunyai kemampuan meningkatkan protein bahan pakan dan pada bahan berselulosa dapat merangsang dikeluarkannya enzim selulase.



Gambar II.11 Koloni *Trichoderma viride*

Surfaktan

Surfaktan merupakan suatu molekul yang sekaligus memiliki gugus hidrofilik dan gugus lipofilik sehingga dapat mempersatukan campuran yang terdiri dari air dan minyak. Surfaktan adalah bahan aktif permukaan. Aktivitas surfaktan diperoleh karena sifat ganda dari molekulnya. Molekul surfaktan memiliki bagian polar yang suka akan

air (hidrofilik) dan bagian non polar yang suka akan minyak/lemak (lipofilik). Bagian polar molekul surfaktan dapat bermuatan positif, negatif atau netral. Sifat rangkap ini yang menyebabkan surfaktan dapat diadsorpsi pada antar muka udara-air, minyak-air dan zat padat-air, membentuk lapisan tunggal dimana gugus hidrofilik berada pada fase air dan rantai hidrokarbon ke udara, dalam kontak dengan zat padat ataupun terendam dalam fase minyak. Umumnya bagian non polar (lipofilik) adalah merupakan rantai alkil yang panjang, sementara bagian yang polar (hidrofilik) mengandung gugus hidroksil. (Jatmika, 1998).

Penambahan surfaktan dalam larutan akan menyebabkan turunnya tegangan permukaan larutan. Setelah mencapai konsentrasi tertentu, tegangan permukaan akan konstan walaupun konsentrasi surfaktan ditingkatkan. Bila surfaktan ditambahkan melebihi konsentrasi ini maka surfaktan mengagregasi membentuk misel. Konsentrasi terbentuknya misel ini disebut Critical Micelle Concentration (CMC). Tegangan permukaan akan menurun hingga CMC tercapai. Setelah CMC tercapai, tegangan permukaan akan konstan yang menunjukkan bahwa antar muka

menjadi jenuh dan terbentuk misel yang berada dalam keseimbangan dinamis dengan monomernya (Genaro, 1990).

Salah satu sifat penting dari surfaktan adalah kemampuan untuk meningkatkan kelarutan bahan yang tidak larut atau sedikit larut dalam medium dispersi. Surfaktan pada konsentrasi rendah dapat menurunkan tegangan permukaan dan menaikkan laju kelarutan obat (Martin dkk., 1993; Yalkowsky, 1981; Zografi et al., 1990), sedangkan pada kadar yang lebih tinggi surfaktan akan berkumpul membentuk agregat yang disebut misel (Shargel & Yu, 1999; Connors et al., 1986).

Menurut Delvina (2011), Klasifikasi surfaktan berdasarkan muatannya dibagi menjadi empat golongan yaitu:

1. Surfaktan anionik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu anion. Contohnya adalah garam alkana sulfonat, garam olefin sulfonat, garam sulfonat asam lemak rantai panjang.
2. Surfaktan kationik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu kation. Contohnya garam alkil trimetil ammonium, garam dialkil-dimetil ammonium dan garam alkil dimetil benzil ammonium.
3. Surfaktan nonionik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya tidak bermuatan. Contohnya ester gliserin asam lemak, ester sorbitan asam lemak, ester sukrosa asam lemak, polietilena alkil amina, polietilen glikol, glukamina, alkil poliglukosida, mono alkanol amina, dialkanol amina dan alkil amina oksida.
4. Surfaktan amfoter yaitu surfaktan yang bagian alkilnya mempunyai muatan positif dan negatif. Contohnya surfaktan yang mengandung asam amino, betain, fosfobetain.

Polietilen glikol (PEG) 4000 adalah termasuk surfaktan non ionik yang banyak digunakan dalam formulasi pembuatan obat karena sifatnya yang stabil, mudah tercampur dengan

komponen-komponen lain, tidak beracun, tidak iritatif, dan efektif dalam rentang pH yang lebar (Rosen, 1978).

Polietilen glikol (PEG) disebut juga makrogol, merupakan polimer sintetik dari oksietilen dengan rumus struktur $H(OCH_2CH_2)_nOH$, dimana n adalah jumlah rata-rata gugus oksietilen. PEG umumnya memiliki bobot molekul antara 200–300000. Penamaan PEG umumnya ditentukan dengan bilangan yang menunjukkan bobot molekul rata-rata. Konsistensinya sangat dipengaruhi oleh bobot molekul. PEG dengan bobot molekul 200–600 (PEG 200–600) berbentuk cair, PEG 1500 semi padat, dan PEG 3000–20000 atau lebih berupa padatan semi kristalin, dan PEG dengan bobot molekul lebih besar dari 100000 berbentuk seperti resin pada suhu kamar. Umumnya PEG dengan bobot molekul 1500–20000 yang digunakan untuk pembuatan dispersi padat (Leuner and Dressman, 2000; Weller, 2003).

Polimer ini mudah larut dalam berbagai pelarut, titik leleh dan toksisitasnya rendah, berada dalam bentuk semi kristalin (Craig, 1990). Kebanyakan PEG yang digunakan memiliki bobot molekul antara 4000 dan 20000, khususnya PEG 4000 dan 6000. Proses pembuatan dispersi padat dengan PEG 4000, umumnya menggunakan metode peleburan, karena lebih mudah dan murah (Leuner and Dressman, 2000).

II.6. Penelitian Terdahulu

Beberapa penelitian terdahulu yang turut melatar belakangi penelitian ini adalah:

1. Susana Ferreira et al (2009) melakukan penelitian tentang optimasi menggunakan response surface pada hidrolisa *Cistus ladanifer* dan *Cystisus striatus* untuk produksi bioethanol. Pada penelitian ini digunakan *Plackett-Burman design* untuk menentukan variabel yang paling mempengaruhi untuk kondisi operasi dan reaksi, sedangkan penggunaan *central composite design* untuk optimasi proses hidrolisis enzimatis. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini adalah, variabel yang

memiliki pengaruh besar pada hidrolisis enzimatis adalah pH, suhu, konsentrasi selulosa, konsentrasi polimer (PEG) sebagai surfaktan dan waktu inkubasi.

2. Johannes Harinata et al (2010) melakukan penelitian tentang “Pembuatan Bioethanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Melalui Proses Fungal Treatment oleh Kombinasi *Tricoderma Harzianum*, *Tricoderma Viride*, *Aspergillus Niger*. Dilanjutkan Proses Fermentasi Oleh *Zymomonasmobilis*”.
3. Mutiara Arum et al (2013) melakukan penelitian tentang “Potensi Kapang *Aspergillus sp.* dalam Proses Hidrolisis untuk Produksi Ethanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya”.
4. Yumarta Tansil et al (2016) melakukan penelitian tentang “Optimasi Teknik Produksi Gula Reduksi dari Limbah Kulit Buah Kopi (*Parchment hull / endocarp*)”.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan gula reduksi dari kulit kopi yang memanfaatkan komponen selulosa maupun hemiselulosanya dengan proses *pretreatment* biologis menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, dan *Trichoderma reesei*. Kemudian dilanjutkan hidrolisa menggunakan *Trichoderma viride* sebagai penghasil enzim *selulase* dan *Aspergillus niger* sebagai penghasil enzim *xylanase*, serta penambahan surfaktan PEG 4000.

III.1 Kondisi Operasi

➤ *Fungal treatment*

- Massa kulit kopi : 100 gr (ukuran 100 mesh).
- Rasio Kulit kopi : air : 1 : 4 (w/v)
- Lama *fungal treatment* : 7 hari
- pH *fungal treatment* : 5
- Suhu *fungal treatment* : 30°C

III.2 Variabel yang Digunakan

➤ *Fungal Treatment* kulit kopi

- Rasio *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger* : 1:0;
1:1; 1:2; 2:1 (v/v)
- Rasio *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* : 0:1;
1:1; 1:2; 2:1 (v/v)
- Rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* : 1:0;
1:1; 1:2; 2:1 (v/v)
- Rasio mikroorganisme : massa kulit kopi : 30 ml : 100 gr

➤ Hidrolisa kulit kopi

- Massa kulit kopi : 1 gram

- Rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* : 1:1; 1:2; 2:1 (v/v)
- Rasio mikroorganisme : larutan buffer : 3 : 27 (ml/ml)
- Waktu Hidrolisa : 16 jam
- Rasio PEG 4000 : massa kulit kopi : 1 : 1 (gr/gr)

III.3 Parameter yang Dianalisa

III.3.1 Analisa Pendahuluan Limbah Kulit Kopi

Kadar glukosa, selulosa, hemiselulosa, lignin, dan pektin

III.3.2 Analisa Parameter Penelitian

- Kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, dan pektin sebelum, saat dan setelah *fungus treatment* oleh *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, dan *Trichoderma reesei*.
- Kadar glukosa sebelum dan setelah melewati proses hidrolisa oleh *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*.

III.4 Dimensi Alat

1. Tabung reaksi
2. Erlenmeyer
3. *Beaker glass*
4. Gelas ukur
5. Cawan
6. Kaca arloji
7. Spatula
8. Labu ukur
9. Pipet ukur
10. *Haemacytometer*

11. Ose

12. *Shaker*

III.5 Bahan yang Digunakan

1. Kulit Buah Kopi
2. *Tricoderma reesei*
3. *Tricoderma viride*
4. *Aspergillus niger*
5. *Bacillus subtilis*
6. Asam Sitrat
7. NaOH
8. Aquadest
9. Sodium sitrat
10. H_2SO_4

III.6 Metode Penelitian

III.6.1 Pre-treatment kulit buah kopi

- Kulit kopi dikeringkan dengan bantuan sinar matahari.
- Kulit kopi dihancurkan.
- Kulit kopi dioven pada suhu $105^{\circ}C$ selama 4 jam.
- Kulit kopi diayak dengan menggunakan *screener* hingga didapat ukuran 100mesh.

III.6.2 Fungal Treatment

- *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, dan *Tricoderma reesei* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Teknik, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS.
- Jumlah mikroorganisme dihitung menggunakan mikroskop. Konsentrasi mikroorganisme pada *Bacillus subtilis* adalah 1.15×10^6 sel/mL, pada *Aspergillus niger* adalah 2.45×10^6 sel/mL dan pada *Tricoderma reesei* adalah 1.65×10^6 se/mL.

- Larutan kulit kopi dibuat dengan rasio kulit kopi : air = 1 : 4 (w/v)
- Mikroorganisme *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, dan *Trichoderma reesei* pada konsentrasi tertentu (sesuai variabel) dimasukkan ke larutan kopi untuk dilakukan proses *funga treatment*.
- *Funga treatment* dilakukan pada suhu 30° C, pH 5 selama 7 hari.
- Pada saat dan setelah proses *funga treatment*, campuran diambil untuk dilakukan analisa lignin dan pektin.

III.6.3 Hidrolisa selulosa dan hemiselulosa pada kulit buah kopi menjadi glukosa.

A. Prosedur Hidrolisis kulit kopi menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*

- Analisa Glukosa, Xilosa, Fruktosa dan Galaktosa sebelum hidrolisa.
- Kulit kopi (100 mesh) yang sudah melewati tahap *funga treatment* ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke Erlenmeyer.
- *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* sesuai variabel dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi kulit kopi.
- 3 ml mikroorganisme dimasukkan kedalam Erlenmeyer dengan rasio (sesuai variable) kemudian ditambahkan buffer sitrat 0,1 M pH 5 hingga volume total larutan mencapai 30 ml.
- Surfaktan PEG 4000 : massa kulit kopi sebesar 1 : 1 (gr/gr).
- Sampel dishaker pada suhu 30°C selama 16 jam.

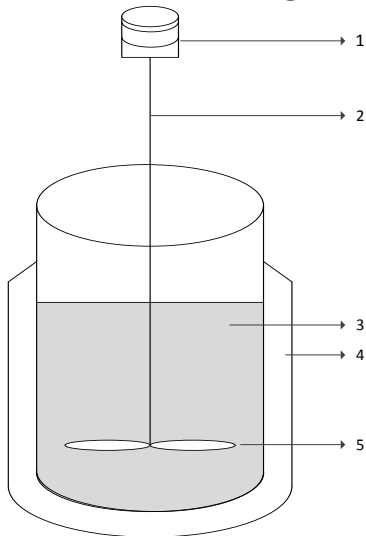
- Analisa Glukosa, Xilosa, Fruktosa, dan Galaktosa sesudah hidrolisa.

B. Pembuatan Larutan Buffer Sitrat pH 5

- Asam sitrat sebanyak 5,7 gram ditimbang dan dimasukkan ke erlemeyer.
- Sodium sitrat sebanyak 20,66 gram ditambahkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisi asam sitrat.
- Asam sitrat dan sodium sitrat dilarutkan dengan aquades hingga 1000 ml.
- pH larutan buffer diatur dengan penambahan NaOH 0,1 M atau H_2SO_4 0,1 M hingga pH larutan buffer menjadi 5.

III.7. Gambar Alat Penelitian

III.7.1 Gambar Alat Fungal Treatment



Keterangan :

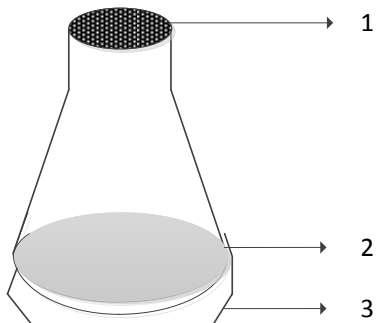
1. Motor
2. Agitator
3. Sludge kulit kopi
4. Air panas yang digunakan sebagai pemanas
5. Impeller

Gambar III.1 Skema Alat Fungal Treatment



Gambar III.2 Alat Fungal Treatment

III.7.2 Gambar Alat Hidrolisa



Keterangan :

1. Penutup Erlenmeyer dengan alumunium foil.
2. Substrat Hidrolisa dengan pH=5.
3. Penjepit Shaker .

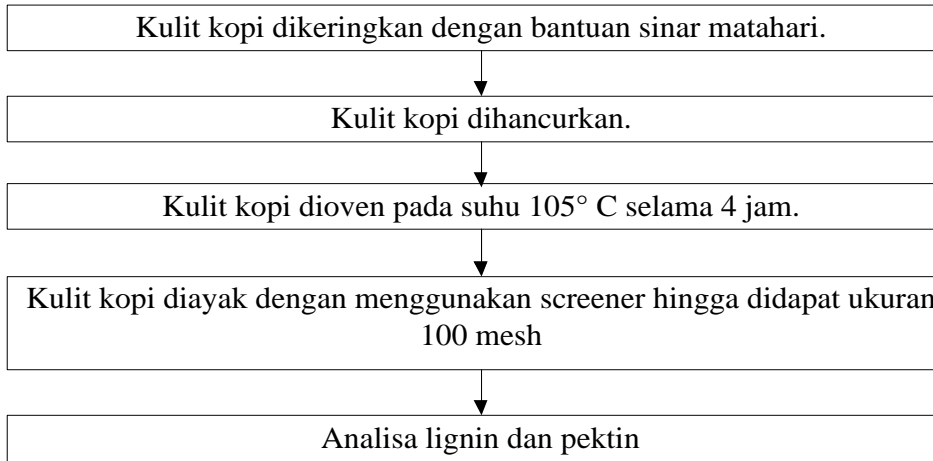
Gambar III.3 Skema Alat Hidrolisa



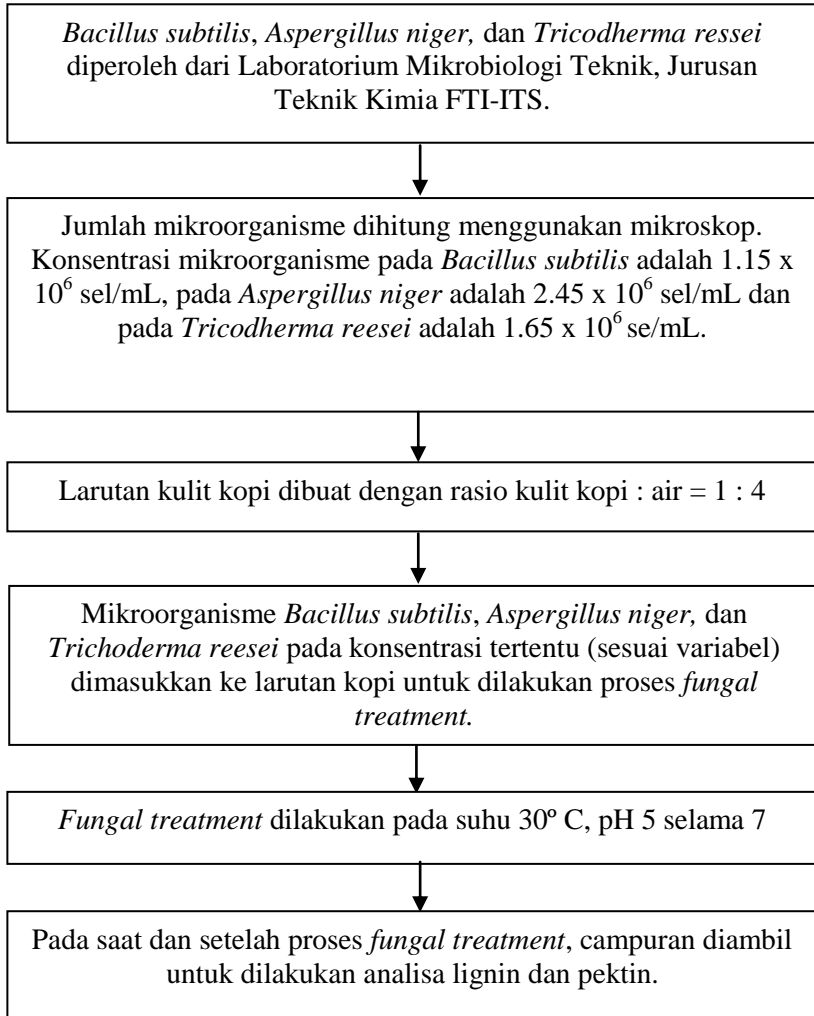
Gambar III.4 Alat Hidrolisa

III.8 Diagram Alir

III.8.1 Pre-treatment kulit kopi

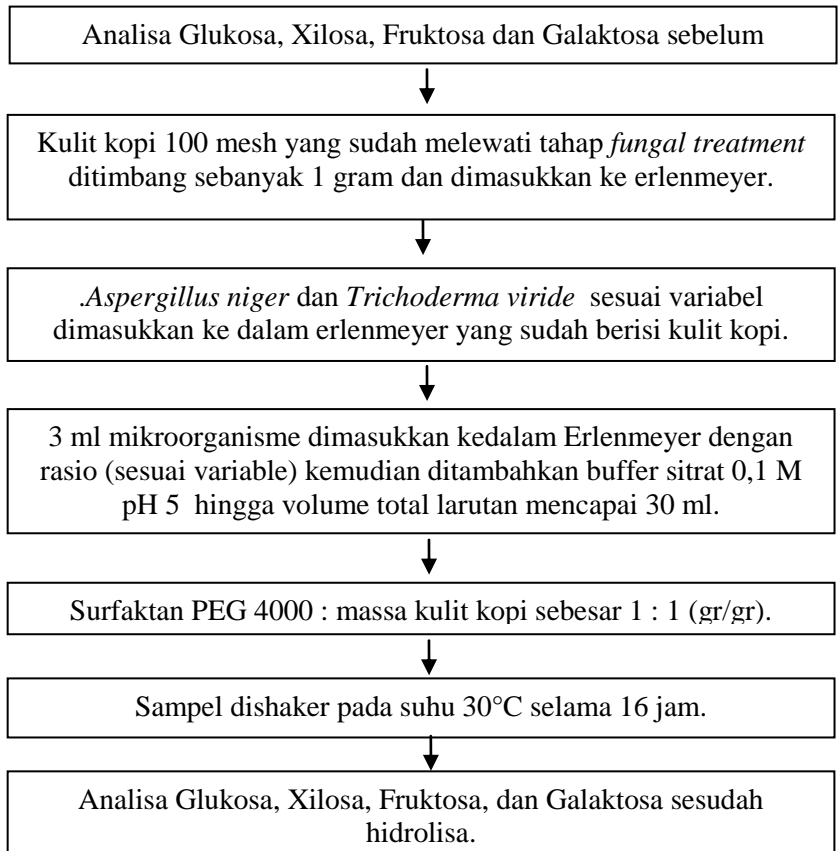


III.8.2 Fungal treatment

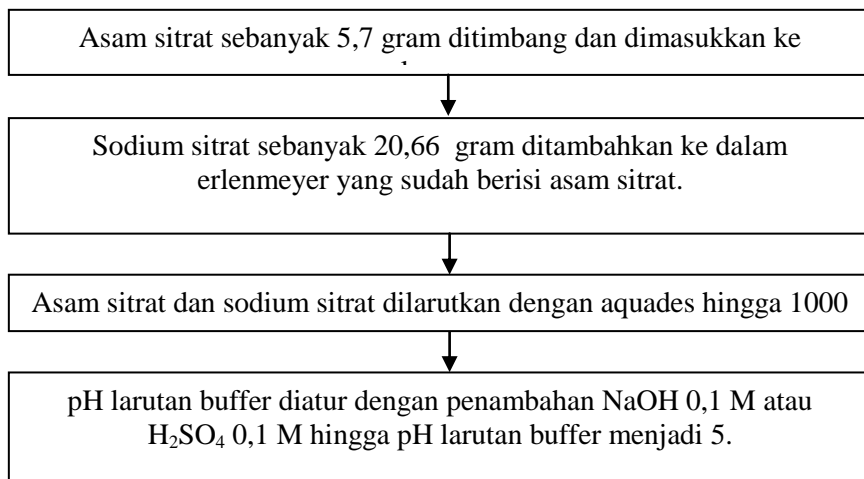


III.8.3 Hidrolisis selulosa dan hemiselulosa pada kulit buah kopi menjadi glukosa.

A. Prosedur Hidrolisis kulit kopi menggunakan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*



B. Pembuatan Larutan Buffer Sitrat pH 5



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang berjudul pengaruh variasi pretreatment biologis pada limbah kulit kopi terhadap hidrolisa untuk menghasilkan gula reduksi adalah sebagai berikut:

Hasil analisa komposisi awal dari kulit kopi yang digunakan sebagai bahan baku penelitian ini ditunjukkan pada tabel IV.1.

Tabel IV.1 Komposisi Kulit Kopi

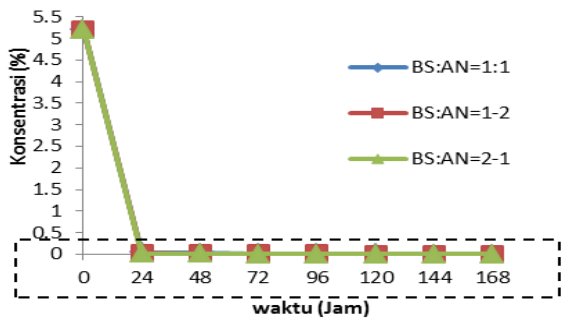
Komponen	% Berat
Lignin	5.21
Pektin	2.28
Glukosa	3.11
Selulosa	57.9
Hemiselulosa	21.63
Tanin	4.81
Poliphenol	3.48
Kafein	0.86
Inhibitor	0.72
TOTAL	100

(Badan Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya – Jawa Timur)

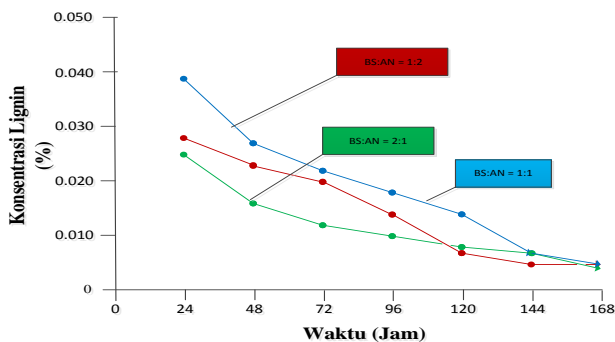
Komposisi diatas merupakan komposisi awal dari proses fungal treatment (jam ke-0). Cara Perhitungan, data hasil analisa dan kurva pertumbuhan mikroba disajikan dalam Appendiks A-1, Appendiks A-2, Appendiks A-3, dan Appendiks A-4.

Pengaruh *Fungal Treatment* pada Kulit Kopi dengan Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*.

Penurunan kadar lignin dan pektin selama *fungal treatment* menggunakan *Bacillus subtilis* (BS) dan *Aspergillus niger* (AN) perbandingan 1:1; 1:2; 2:1 (v/v), dengan pengadukan sebesar 30 rpm yang dilakukan pada suhu 30°C dan pH 5 selama 7 hari dapat dilihat pada Gambar IV.1.a, IV.1.b, IV.1.c, dan IV.1.d.

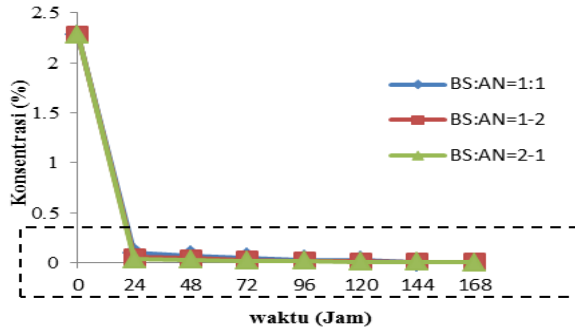


Gambar IV.1.a Konsentrasi lignin terhadap waktu pada *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger*

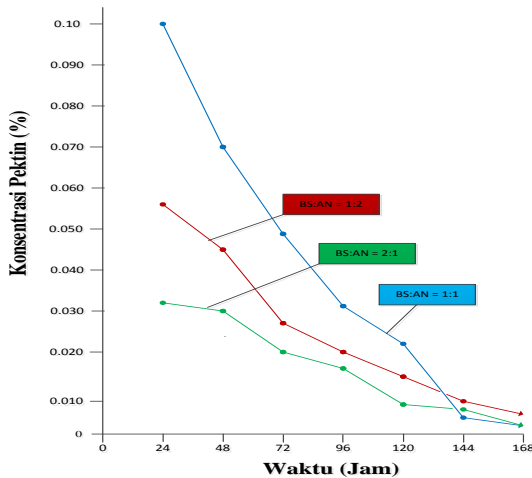


Gambar IV.1.b Perbesaran dari Gambar IV.1.a pada range konsentrasi 0 s/d 0.05%

Gambar IV.I a dan b menunjukkan bahwa pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-24 kandungan lignin mengalami penurunan yang signifikan melalui proses fungal treatment dari 5.21% turun menjadi 0.039% untuk variable BS:AN=1:1 (v/v), untuk variable BS:AN=1:2 (v/v) mengalami penurunan dari 5.21% turun menjadi 0.0281% sedangkan untuk variabel BS:AN=2:1 (v/v) mengalami penurunan dari 5.21% turun menjadi 0.025%, pada penurunan lignin jam ke-168 variabel BS:AN=1:1 (v/v); BS:AN=1:2 (v/v); BS:AN=2:1 (v/v) mengalami penurunan sebesar 0.0045%; 0.0045%; dan 0.004%. hal ini disebabkan karena pada dasarnya *Bacillus subtilis* merupakan jenis kelompok bakteri termofilik yang dapat mendegradasi pektin, sedangkan *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim ekstraseluler untuk mendegradasi lignin dan pektin (Herbstreith,2005). Akan tetapi pada penelitian ini hasil terbaik dalam penurunan lignin adalah variabel BS:AN=2:1(v/v) yang jika dilihat dari perbandingan mikroorganisme dan disesuaikan dengan literatur variabel BS:AN=2:1(v/v) akan lebih bagus hasilnya bila digunakan sebagai pendegradasi pektin karena perbandingan *Bacillus subtilis* sebagai pendegradasi pektin lebih banyak. Berbeda halnya jika dilihat dari kurva pertumbuhan campuran mikroorganisme pada Appendix A-4.1 untuk variabel BS:AN=2:1 (v/v) mengalami kenaikan campuran mikroorganisme yang cukup baik dibandingkan dengan variabel yang lain, sehingga dapat dibenarkan bahwa variabel penurunan lignin terbaik adalah BS:AN=2:1 (v/v).



Gambar IV.1.c Konsentrasi pektin terhadap waktu pada *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger*



Gambar IV.1.d Perbesaran dari Gambar IV.1.c pada range konsentrasi 0 s/d 0.01%

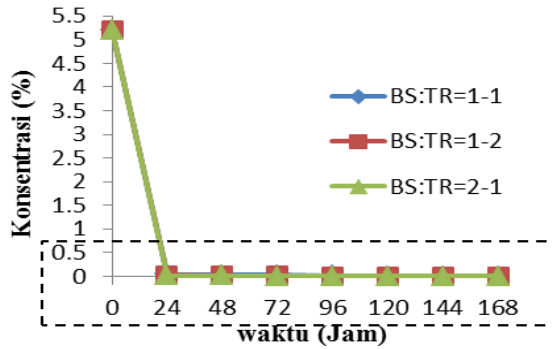
Gambar IV.1 c dan d menunjukkan bahwa pada jam ke-0 sampai dengan 24 jam kandungan pektin mengalami penurunan yang signifikan dari 2.28% turun menjadi 0.1% untuk variable BS:AN=1:1 (v/v), variable BS:AN=1:2 (v/v) mengalami

penurunan dari 2.28% hingga 0.056% sedangkan variabel BS:AN=2:1 (v/v) mengalami penurunan dari 2.28% menjadi 0.032%. untuk penurunan pektin pada jam ke-168 pada variabel BS:AN=1:1 (v/v); BS:AN=1:2 (v/v); BS:AN=2:1 (v/v) sebesar 0.002%; 0.005%; dan 0.002%. seperti yang dialami pada penurunan lignin, penurunan pektin dengan rasio mikroorganisme *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* mempunyai fungsi yang sama yaitu dapat mendegradasi pektin oleh sebab itu dapat menurunkan kadar pektin hingga 0.002%. hasil terbaik untuk penurunan pektin adalah rasio perbandingan BS:AN=2:1 yang artinya semakin besar rasio penambahan *Bacillus subtilis* semakin besar penurunan kadar pektin.

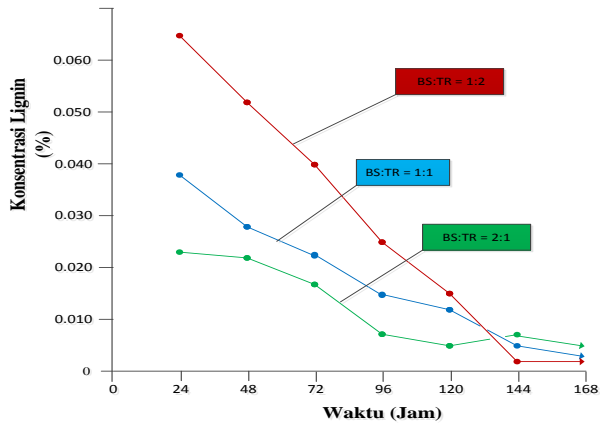
Pada jam ke-48 sampai ke-144 lignin dan pektin pada kulit kopi mengalami penurunan secara perlahan, dimana disebabkan karena mikroorganisme sudah berada pada fase stationer dilihat pada Appendix A-4.1 sehingga mengalami penurunan secara perlahan sampai pada fase endogenous Appendix A-4.1 di jam ke-168, sehingga produksi enzim cellulolytic menurun (C.David dan Thiry. P, 1981).

Pengaruh Fungal Treatment pada Kulit Kopi dengan Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Tricoderma reseei*.

Penurunan kadar Lignin dan pektin selama fungal treatment menggunakan *Bacillus subtilis* (BS) dan *Tricoderma reseei* (TR) dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1 (v/v), dengan tambahan pengadukan sebesar 30 rpm yang dilakukan pada suhu 30°C dan pH 5 selama 7 hari dapat dilihat pada gambar IV.2.a, IV.2.b, IV.2.c, dan IV.2.d.

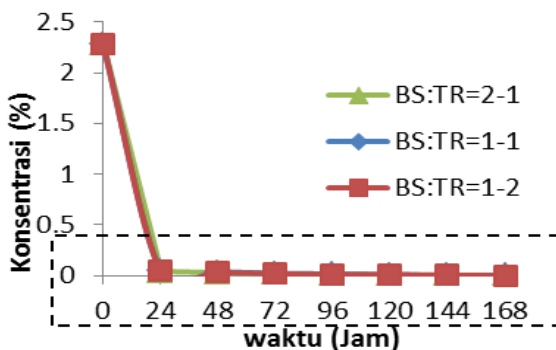


Gambar IV.2.a Konsentrasi lignin terhadap waktu pada *Bacillus subtilis* : *T. Reesei*

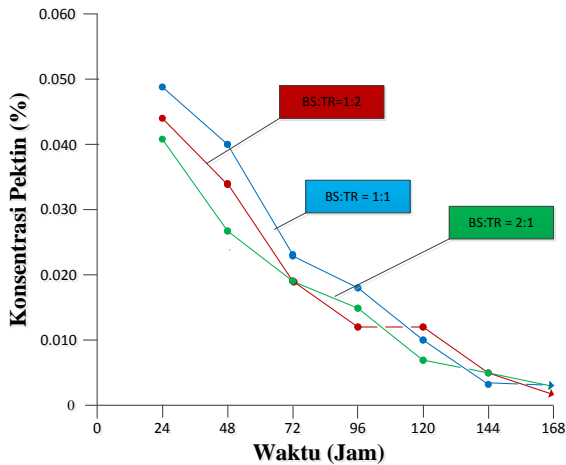


Gambar IV.2.b Perbesaran dari Gambar IV.1.a pada range konsentrasi 0 s/d 0.07%

Gambar IV.2.a dan b dapat dilihat penurunan kandungan lignin pada jam ke-0 ke-24 jam pertama mengalami penurunan yang signifikan untuk rasio BS:TR=1:1 (v/v); BS:TR=1:2 (v/v); dan BS:TR=2:1 (v/v) dari 5.21 % mengalami penurunan hingga 0.038%; 0.015% dan 0.023%. pada jam ke-168 konsentrasi lignin tersisa 0.003%; 0.002%; dan 0.005% untuk rasio BS:TR=1:1 (v/v); BS:TR=1:2 (v/v); dan BS:TR=2:1 (v/v). Penurunan lignin dengan variabel *Bacillus subtilis* (BS) dan *Tricoderma reesei* (TR) yang terbaik adalah perbandingan BS:TR=1:2 (v/v). Sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa *Bacillus subtilis* merupakan jenis kelompok bakteri termofilik yang dapat mendegradasi pektin dan mengacu pada buku identifikasi jamur “Illustrated Genera of Imperfect Fungi” karangan Barnett dan Hunter (2000), maka dapat diketahui bahwa *Tricoderma reesei* merupakan jamur kelas Ascomycetes yang dapat mendegradasi lignin pada beberapa lingkungan. Yang artinya pada perbandingan BS:TR=1:2 (v/v) semakin besar *Tricoderma reesei* yang ditambahkan, maka semakin besar penurunan konsentrasi lignin yang terjadi karena *Tricoderma reesei* sangat berpengaruh pada penurunan konsentrasi lignin.



Gambar IV.2.c konsentrasi pektin terhadap waktu
Pada *Bacillus S: T. Reesei*



Gambar IV.2.d Perbesaran dari Gambar IV.1.c pada range konsentrasi 0 s/d 0.06%

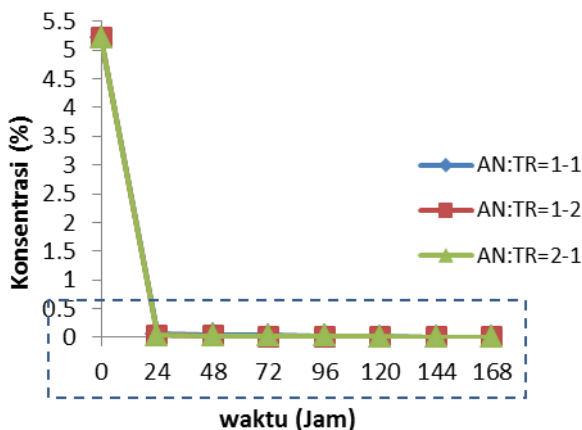
Gambar IV.2.c dan d dapat dilihat penurunan kandungan pektin pada jam ke- 0 ke-24 jam pertama mengalami penurunan yang signifikan untuk rasio BS:TR=1:1 (v/v); BS:TR=1:2 (v/v); dan BS:TR=2:1 (v/v) dari 2.81 % mengalami penurunan hingga 0.049%; 0.041% dan 0.0445%. pada jam ke-168 konsentrasi pektin tersisa 0.003%; 0.005%; dan 0.002% untuk rasio BS:TR=1:1 (v/v); BS:TR=1:2 (v/v); dan BS:TR=2:1 (v/v). Untuk penurunan pektin dengan variabel *Bacillus subtilis* (BS) dan *Tricoderma reesei* (TR) yang terbaik adalah perbandingan BS:TR=2:1 Sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa *Bacillus subtilis* merupakan jenis kelompok bakteri termofilik yang dapat mendegradasi pektin dan mengacu pada buku identifikasi jamur “Illustrated Genera of Imperfect Fungi” karangan Barnett dan Hunter (2000), maka dapat diketahui bahwa *Tricoderma reesei*

merupakan jamur kelas Ascomycetes yang dapat mendegradasi lignin pada beberapa lingkungan. Yang artinya pada perbandingan BS:TR=2:1 (v/v) semakin besar *Basillus subtilis* yang ditambahkan, maka semakin besar penurunan konsentrasi pektin yang terjadi karena *Basillus subtilis* sangat berpengaruh pada penurunan konsentrasi pektin.

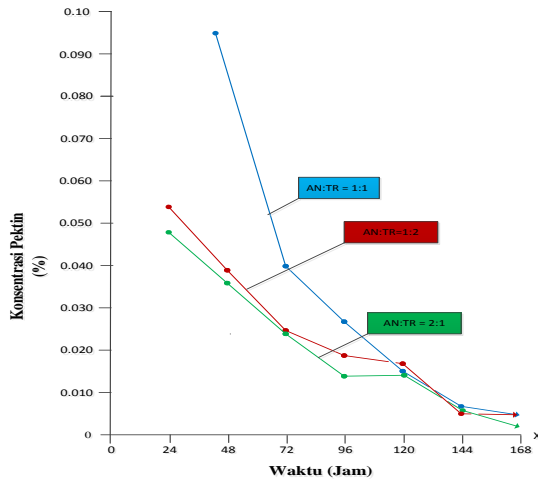
Konsentrasi lignin pada jam ke-48 sampai ke-120 mengalami penurunan secara perlahan, dilihat pada kurva perkembangan mikroorganisme sudah berada pada fase stationer dapat dilihat pada Appendix A-4.2, sehingga mengalami penurunan secara perlahan sampai pada fase endogenous pada jam ke-144 sampai ke-168 pada Appendix A-4.2.

Pengaruh Fungal Treatment pada Kulit Kopi dengan Menggunakan *Aspergillus niger* dan *Tricoderma reesei*.

Penurunan kadar Lignin selama fungal treatment menggunakan *Aspergillus niger* (AN) dan *Tricoderma reesei* (TR) dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1 (v/v), dengan tambahan pengadukan sebesar 30 rpm yang dilakukan pada suhu 30°C dan pH 5 selama 7 hari dapat dilihat pada gambar IV.3.a, IV.3.b, IV.3.c, dan IV.3.d.



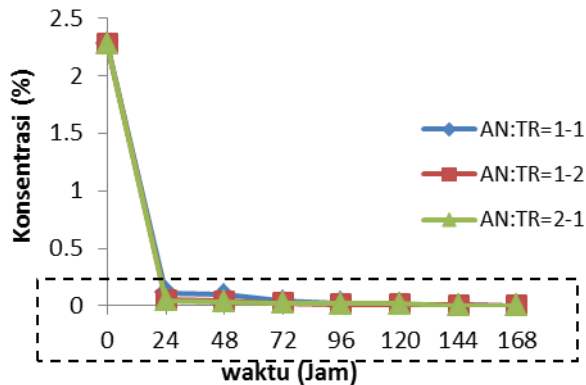
Gambar IV.3.a Konsentrasi lignin terhadap waktu pada *Aspergillus niger* : *T. Reesei*



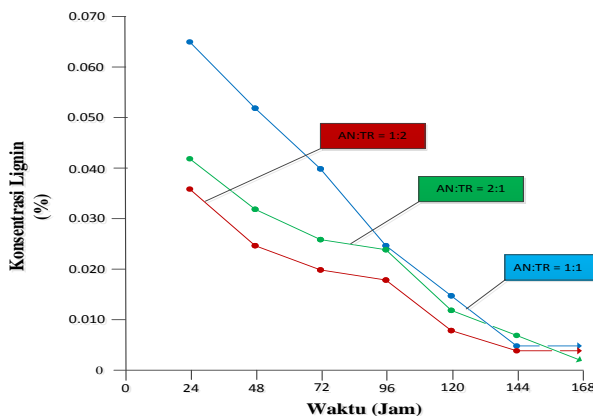
Gambar IV.3.b Perbesaran dari Gambar IV.1.a pada range konsentrasi 0 s/d 0.1%

Seperti yang dialami pada variabel sebelumnya Gambar IV.3 a dan b menunjukkan penurunan lignin yang signifikan pada jam ke-0 sampai 24 jam pertama. dari 5.21% turun menjadi 0.065% untuk variable AN:TR=1:1 (v/v), untuk variable AN:TR=1:2 (v/v) turun menjadi 0.036% sedangkan untuk variable AN:TR=2:1 (v/v) turun menjadi 0.041%. pada jam ke-168 konsentrasi lignin terus menurun hingga 0.005%; 0.004%; dan 0.002% untuk variabel AN:TR=1:1 (v/v); AN:TR=1:2 (v/v); dan AN:TR=2:1 (v/v). Pada penelitian penurunan lignin didapatkan variabel terbaik pada rasio AN:TR=2:1 (v/v) dengan konsentrasi lignin pada akhir fungal treatment sebesar 0.002%. hal ini di sesuai dengan literatur yang menyatakan untuk rasio perbandingan ini kedua mikroorganisme mempunyai fungsi yang

sama untuk menurunkan lignin dibuktikan dengan penelitian prayudyaningsih dkk., 2007 dalam hasil penelitiannya *Aspergillus niger* berpotensi mendegradasi lignin dan pektin. Sedangkan untuk *Tricoderma reesei* merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu mendegradasi ligin (Singh,2006; Grainger & Lynch, 1984).



Gambar IV.3.c Konsentrasi lignin terhadap waktu pada *Aspergillus niger* : *T. Reesei*

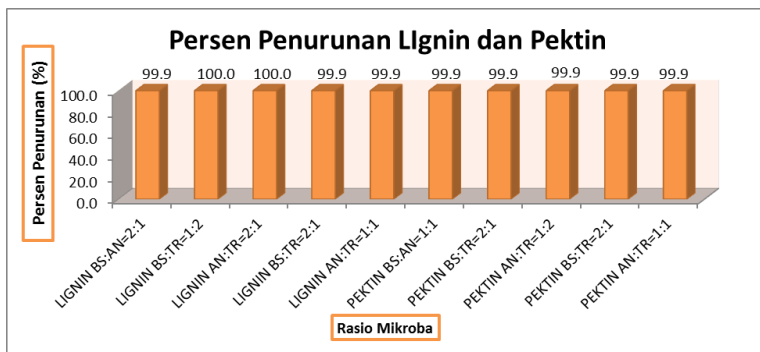


Gambar IV.3.d Perbesaran dari Gambar IV.1.a pada range konsentrasi 0 s/d 0.07%

Seperti yang dialami pada variabel sebelumnya Gambar IV.3 c dan d menunjukkan penurunan pektin yang signifikan pada jam ke-0 sampai 24 jam pertama. dari 2.28% turun menjadi 0.115% untuk variabel AN:TR=1:1 (v/v), untuk variabel AN:TR=1:2 (v/v) turun menjadi 0.054% sedangkan untuk variabel AN:TR=2:1 (v/v) turun menjadi 0.048%. pada jam ke-168 konsentrasi lignin terus menurun hingga 0.005%; 0.002%; dan 0.005% pada variabel AN:TR=1:1 (v/v); AN:TR=1:2 (v/v); dan AN:TR=2:1 (v/v). Pada penelitian penurunan pektin didapatkan variabel terbaik pada rasio AN:TR=1-2 (v/v) dengan konsentrasi pektin pada akhir fungal treatment sebesar 0.002%. dalam hal ini yang lebih berpengaruh kerja *Aspergillus niger* walaupun pada dasarnya penambahan *Aspergillus niger* lebih sedikit dibandingkan dengan penambahan *Tricoderma reesei*. jika dilihat dari kurva pertumbuhan campuran mikroorganisme pada Appendix A-4.3 untuk variabel AN:TR=1:2 (v/v) mengalami kenaikan campuran mikroorganisme yang cukup baik dibandingkan dengan variabel yang lain, sehingga dapat dijadikan acuan bahwa variabel penurunan lignin terbaik adalah AN:TR=2:1 (v/v).

Konsentrasi lignin dan pektin pada kulit kopi mengalami penurunan secara perlahan Pada 48 jam hingga 144 jam, dimana disebabkan karena mikroorganisme sudah berada pada fase stationer (Sa'adah et.al, 2008) sesuai pada Appendix A-4.3 sehingga mengalami penurunan secara perlahan sampai pada fase endogenous pada jam ke-168 pada Appendix A-4.3.

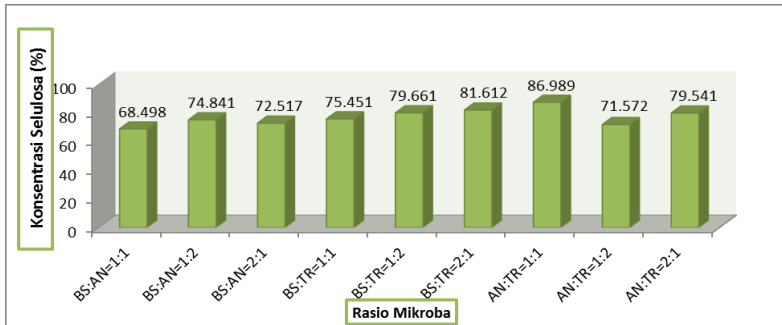
Persentase penurunan Lignin dan Pektin



Gambar IV.4 Persen penurunan lignin dan pektin

Gambar IV.4 menunjukkan persen penurunan lignin dan pektin dengan rasio mikroorganisme yang beragam, dari pembahasan diatas dapat diambil kesimpulan rasio *Basillus subtilis* : *Aspergillus niger* terbaik penurunan lignin pada rasio 2:1 (v/v) dengan persen penurunan 99,9% dan terbaik untuk penurunan pektin pada rasio *Basillus subtilis* : *Aspergillus niger* = 1:1 (v/v) dengan persen penurunan 99%. Untuk rasio *Basillus subtilis*: *Tricoderma reseei* variabel terbaik persen penurunan lignin dan pektin sebesar 100.0% dan 99.9% pada rasio 1:2 (v/v) dan rasio 2:1 (v/v). Sama halnya dengan rasio *Aspergillus niger* : *Tricoderma reseei* = 2:1 merupakan variabel terbaik untuk penurunan lignin dan rasio 1:2 (v/v) untuk penurunan pektin dengan besar persen penurunan sebanyak 100.0% dan 99.9%.

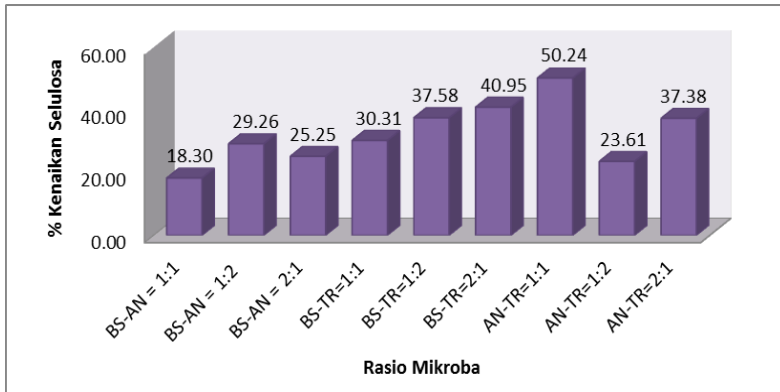
Persentase Kenaikan Selulosa



Gambar IV.5.a. Konsentrasi Selulosa pada Jam ke-168 Fungal Treatment

Gambar IV.5.a menunjukkan konsentrasi selulosa pada jam ke-168 fungal treatment dengan berbagai rasio mikroorganisme, Konsentrasi selulosa dengan perbandingan *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger* = 1:1; 1:2; dan 2:1 (v/v) sebesar 68.498%; 74.841%; dan 72.517%. Sedangkan konsentrasi selulosa dengan rasio *Bacillus subtilis*: *Tricoderma reseei* = 1:1; 1:2; dan 2:1 (v/v) sebesar 75.451%; 79.661%; dan 81.612%. Pada rasio *Aspergillus niger*: *Tricoderma reseei* = 1:1; 1:2; dan 2:1 (v/v) sebesar 86.989%; 71.572%; dan 79.541%.

Dari hasil analisa konsentrasi selulosa pada jam ke-168 pada proses fungal treatment tersebut diatas didapatkan dua variabel dengan konsentrasi selulosa tertinggi yaitu pada rasio *Bacillus subtilis*: *Tricoderma reseei* = 2:1 sebesar 81.612% dan rasio *Aspergillus niger*: *Tricoderma reseei* = 1:1 sebesar 86.989%.



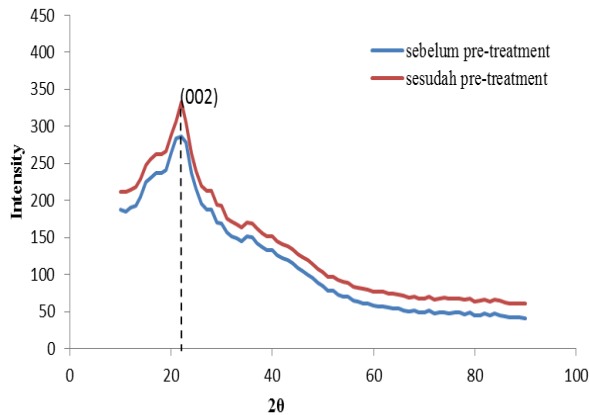
Gambar IV.5.b. Persen kenaikan Selulosa

Gambar IV.5.b dapat dilihat persen kenaikan selulosa. Dengan terdegradasinya kandungan lignin dan pektin, maka menyebabkan kandungan selulosa pada kulit kopi meningkat karena ikatan yang mengikat gugus berupa kandungan lignin dan pektin telah terdegradasi.

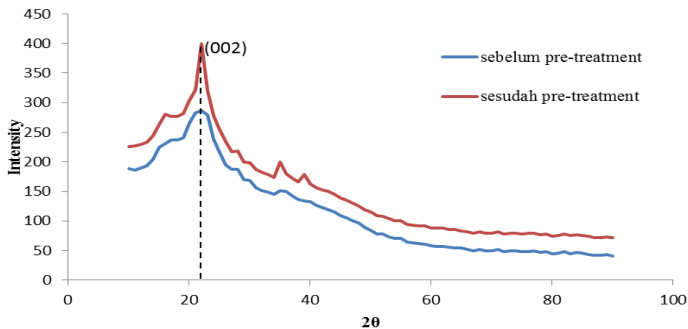
Berdasarkan penelitian sebelumnya, semakin besar penurunan kandungan lignin dan pektin semakin besar pula kenaikan selulosa pada kulit kopi. Kenaikan tersebut dikarenakan lignin dan pektin sebagai pengikat selulosa akan terpisah sehingga kandungan selulosa semakin besar (Widjaja et al, 2016). Pada penelitian ini kami memilih 2 variabel kenaikan selulosa terbaik yang akan dilanjutkan ke proses selanjutnya yaitu hidrolisa. dari berbagai macam rasio mikroorganisme tersebut persen kenaikan selulosa tertinggi pertama pada rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* 1:1 (v/v) sebesar 50.24% dengan persen penurunan lignin dan pektin sebesar 99.9% dan 99.8% dan persen kenaikan selulosa terbaik ke-2 pada rasio *Bacillus subtilis* : *Trichoderma reesei* 2:1 (v/v) sebesar 40.95% dengan persen penurunan lignin dan pektin sebesar 99.9% dan 99.9%.

Selulosa merupakan polimer linear yang tersusun dari *D-glucosyranose* dan dihubungkan dengan ikatan β -1,4-*glycosidic*. Kelompok hidroksil yang terdapat pada selulosa dapat menghasilkan berbagai macam struktur kristalin pada selulosa (Park et. al., 2010). Pada percobaan ini, dilakukan analisa *X-Ray Diffraction* (XRD) untuk mengetahui struktur kristalin dari substrat, dimana substrat yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit kopi. Analisa XRD dilakukan pada kulit kopi sebelum *pretreatment* dan kulit kopi setelah *pretreatment* dengan BS:TR=2:1(v/v) dan AN:TR=1:1(v/v).

XRD digunakan untuk analisis komposisi fasa atau senyawa pada material dan juga karakterisasi kristal. Prinsip dasar XRD adalah mendifraksi cahaya yang melalui celah kristal. Difraksi cahaya oleh kisi-kisi atau kristal ini dapat terjadi apabila difraksi tersebut berasal dari radius yang memiliki panjang gelombang yang setara dengan jarak antar atom, yaitu sekitar 1 Angstrom. Radiasi yang digunakan berupa radiasi sinar-X, elektron, dan neutron. Sinar-X merupakan foton dengan energi tinggi yang memiliki panjang gelombang berkisar antara 0.5 sampai 2.5 Angstrom. Ketika berkas sinar-X berinteraksi dengan suatu material, maka sebagian berkas akan diabsorpsi, ditransmisikan, dan sebagian lagi dihamburkan terdifraksi. Hamburan terdifraksi inilah yang dideteksi oleh XRD. Berkas sinar X yang dihamburkan tersebut ada yang saling menghilangkan karena fasanya berbeda dan ada juga yang saling menguatkan karena fasanya sama. Berkas sinar X yang saling menguatkan itulah yang disebut sebagai berkas difraksi.



Gambar IV.5.c. Hasil Analisa XRD Kulit Kopi Sebelum dan Setelah Pretreatment Variabel BS:TR=2:1(v/v)



Gambar IV.5.d. Hasil Analisa XRD Kulit Kopi Sebelum dan Setelah Pretreatment Variabel AN:TR=1:1(v/v)

Gambar IV.5.c dan gambar IV.5.d menunjukkan hasil Analisa XRD Kulit Kopi Sebelum dan Setelah Pretreatment Variabel BS:TR=2:1(v/v) dan hasil Analisa XRD Kulit Kopi

Sebelum dan Setelah Pretreatment Variabel AN:TR=1:1(v/v). Pada kulit buah kopi sebelum *pretreatment* menunjukkan puncak difraksi pada $2\theta = 22^\circ$; yang merujuk pada *reflector plane* (002). Puncak terlihat pada Gambar IV.5.c dan Gambar IV.5.d sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Park et. al. pada 2010 dimana puncak pada 2θ tersebut merupakan karakteristik dari kristalin selulosa. Setelah dilakukan *pretreatment* kulit kopi, dimana *pretreatment* yang dilakukan adalah *pretreatment organosolv* dengan *ethanol* 50%, didapatkan hasil analisa XRD dengan puncak difraksi pada *reflector plane* (002) mengalami peningkatan intensitas seperti yang terlihat pada Gambar IV.5.c dan Gambar IV.5.d. Hasil yang didapatkan merupakan karakter umum dari selulosa yang sering ditemukan setelah *pretreatment* dengan cara pelarutan dan regenerasi, dimana luas area pada *reflector plane* (002) mengalami peningkatan (Xiao et. al., 2011).

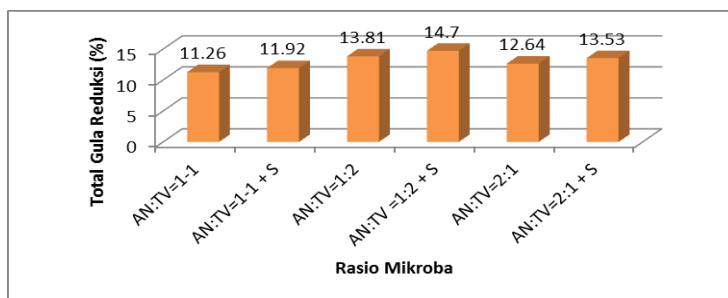
Hidrolisa Kulit Kopi dengan Rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride*

Hidrolisa kulit kopi setelah melewati tahap fungal treatment menggunakan *Aspergillus niger* (AN) dan *Trichoderma viride* (TV) dengan perbandingan 1:1; 1:2; 2:1 (v/v) dan penambahan surfaktan dengan tujuan untuk meningkatkan aktivitas enzim pada hidrolisa (Ferreira et al, 2009), dengan tambahan shaker sebesar 20 rpm yang dilakukan pada suhu 30°C pH 5 selama 16 jam dapat dilihat pada Tabel IV.II.

Tabel IV.2. Hasil analisa gula reduksi sebelum hidrolisa

Pre-Treatment Terbaik	Gula Reduksi Sebelum Hidrolisa (%)				
	Xylosa	Fruktosa	Glukosa	Galaktosa	Total
BS-TR 2:1	2.23	1.32	4.11	2.08	9.74
AN:TR 1:1	2.81	2.09	4.38	3.22	12.5

Pada Tabel IV.II. Dapat dilihat dari hasil pre-treatment terbaik yang akan kami lanjutkan ke proses selanjutnya yaitu hidrolisa, kami lakukan analisa gula reduksi terlebih dahulu. Dari selulosa sebesar 40.95% variabel BS:TR=2:1 (v/v) di dapatkan hasil analisa awal total gula reduksi sebesar 9.74% dan pada AN:TR=1:1 dengan konsentrasi selulosa akhir sebesar 50.24% di dapatkan hasil analisa awal total gula reduksi sebesar 12.50%.

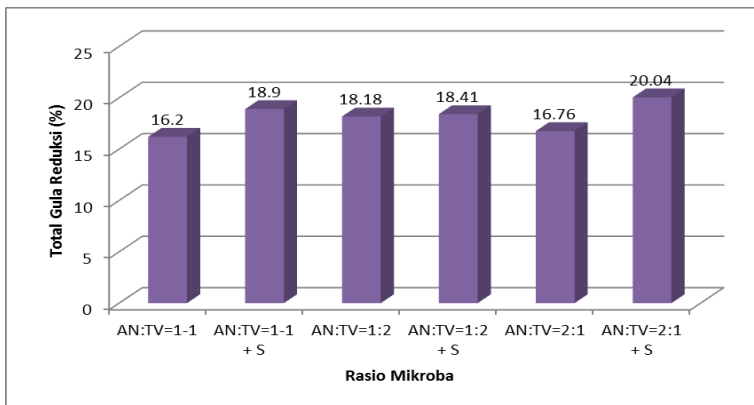


Gambar IV.6.a. Hasil total gula reduksi setelah hidrolisa dari variabel pre-treatment terbaik BS:TR=2:1 (v/v)

Proses hidrolisa ini bertujuan untuk Mengetahui hasil hidrolisa limbah kulit kopi yang telah di *treatment* dengan menggunakan mikroorganisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* serta penambahan surfaktan PEG 4000 untuk

menghasilkan gula reduksi yang terbaik. Gambar IV.6.1 menunjukkan hasil total gula reduksi setelah hidrolisa dari variabel pretreatment terbaik BS:TR = 2:1 (v/v). Analisa awal kandungan total gula reduksi sebelum memasuki tahap hidrolisa pada rasio BS:TR = 2:1 (v/v) sebesar 9.74%, sedangkan hasil total gula reduksi setelah proses hidrolisa dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* (AN) : *Trichoderma viride* (TV) =1:1(v/v); 1:2(v/v); dan 2:1(v/v) mengalami peningkatan menjadi 11.26%; 13.81%; dan 12.64%. dalam hal ini jika dihitung dalam persen kenaikan total gula reduksi sebesar 15.61%; 41.79%; dan 29.77%.

Sesuai tujuan penelitian dengan rasio perbandingan mikroorganisme yang sama kami kembangkan lagi dengan menambahkan surfaktan PEG 4000 didapatkan peningkatan hasil gula reduksi sebesar 11.92%; 14.7%; dan 13.53% untuk rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride*= 1:1(v/v); 1:2(v/v); dan 2:1(v/v) dengan penambahan surfaktan. jika dihitung dalam persen kenaikan total gula reduksi 22.38%; 50.92%; dan 38.91%.



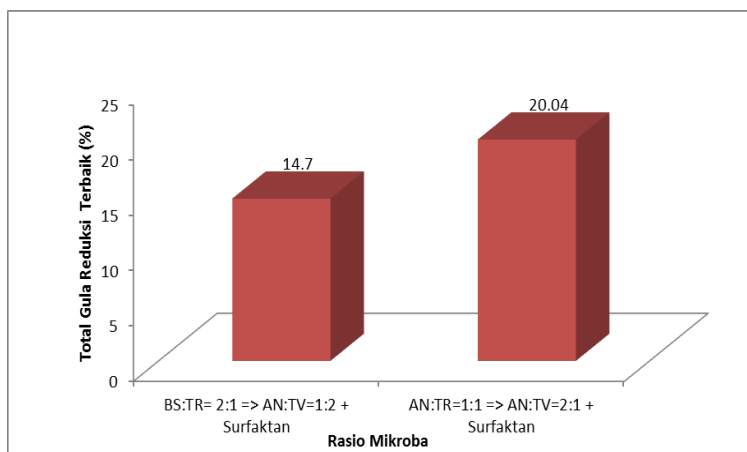
Gambar IV.6.b. Hasil gula reduksi setelah hidrolisa dari variabel pre-treatment terbaik AN:TR=1:1 (v/v)

Gambar IV.6.2 menunjukkan hasil total gula reduksi setelah hidrolisa dari variabel pretreatment terbaik AN:TR=1:1(v/v). Analisa awal kandungan total gula reduksi rasio AN:TR=1:1 (v/v) dengan konsentrasi selulosa akhir sebesar 50.24%. didapatkan total gula reduksi 12.50% sedikit lebih besar dibandingkan dengan total gula reduksi pada rasio BS:TR=2:1 (v/v) selisih sekitar 2.76%. sama halnya dengan hasil total gula reduksi setelah proses hidrolisa dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 1:1 (v/v); 1:2(v/v); dan 2:1(v/v) yang juga mengalami peningkatan yang lebih dibandingkan rasio sebelumnya yaitu 16.2%; 18.18%; dan 16.76%. dalam hal ini jika dihitung dalam persen kenaikan total gula reduksi sebesar 29.60%; 45.44%; dan 34.08%.

Dalam hal ini kami mengacu pada penelitian Pikukuh (2012) yang telah berhasil menguji selulolitik pada jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* yang mampu mendegradasi selulosa dengan memproduksi enzim lignoselulolitik seperti enzim selulase. Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glikosidase. Enzim endoglukanase memecah selulosa rantai pendek kemudian dilanjutkan enzim eksoglukanase memecah selulosa amorf menjadi selulosa rantai pendek menjadi selobiosa, dan terakhir akan dipecah selobiosa menjadi glukosa oleh enzim β -glikosidase.

Pada percobaan dengan variabel penambahan surfaktan, mengalami peningkatan konsentrasi total gula reduksi. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ferreira (2009) mengatakan bahwa penambahan surfaktan efektif untuk meningkatkan aktivitas enzim pada hidrolisa dimana enzim dapat mendegradasi selulosa menjadi gula reduksi dan dengan penambahan surfaktan PEG 4000 dapat mengalami peningkatan yang signifikan untuk meningkatkan yield hidrolisa. Juga sesuai dengan penelitian Goes, Ana (1999) mengatakan surfaktan dapat meningkatkan produksi enzim secara signifikan. Penelitian tersebut sesuai dengan hasil yang diperoleh, yaitu untuk rasio

Aspergillus niger : *Trichoderma viride* =1:1(v/v); 1:2(v/v); dan 2:1(v/v) dengan penambahan surfaktan didapatkan hasil sebesar 18.9%; 18.41%; dan 20.04%. jika dihitung dalam persen kenaikan total gula reduksi didapatkan 51.20%; 47.28%; dan 60.32%.



Gambar IV.6.c. Hasil gula reduksi setelah hidrolisa dari dua variabel pre-treatment terbaik BS:TR=2:1 (v/v) dan AN:TR=1:1 (v/v)

Berdasarkan hasil analisa dan perhitungan diatas dapat diambil kesimpulan, bahwa untuk setiap variabel terbaik dari hasil pretreatment BS:TR maupun AN:TR lebih baik ditambahkan surfaktan. Dengan total gula reduksi terbaik untuk variabel pretreatment BS:TR dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Tricoderma viride* = 1:2 + Surfaktan sebesar 14,7%. Sedangkan untuk variabel pretreatment AN:TR dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Tricoderma viride* = 2:1 + Surfaktan sebesar 20.04%. Dalam hal ini jika dibandingkan dengan hasil total gula reduksi yang didapatkan pada proses pre-treatment kimia (*Organosolv*) dengan konsentrasil selulosa

sebesar 66,82%(v/v) dilanjutkan dengan hidrolisa menggunakan enzim murni tanpa penambahan surfaktan didapatkan total gula reduksi 10,56%.

Hasil total gula reduksi yang didapatkan dari dua proses penelitian yang berbeda. Pre-treatment biologi atau dengan penambahan mikroorganisme dapat menaikkan kadar selulosa lebih signifikan dibandingkan dengan proses pre-treatment kimia (*Organosolv*). Sama halnya dengan proses hidrolisa dengan penambahan rasio mikroorganisme dan penambahan surfaktan didapatkan total gula reduksi yang jauh banyak dibandingkan dengan hidrolisa menggunakan enzim.

Yield Hasil Hidrolisa Kulit Kopi dengan Rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride*

Pada keseluruhan variabel percobaan yang telah dilakukan, terdapat kenaikan jumlah gula reduksi yang terbentuk selama hidrolisis dengan mikroorganisme pada waktu 16 jam. Hal ini menunjukkan bahwa rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* dapat melakukan hidrolisis selulosa dan hemiselulosa pada kulit buah kopi menjadi gula reduksi. Adanya kombinasi dari *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* dapat memaksimalkan proses hidrolisis kulit kopi, dimana selulosa yang terkandung pada kulit kopi dihidrolisis menjadi gula reduksi jenis glukosa oleh enzim selulase dari *Aspergillus niger* dan hemiselulosa dihidrolisis oleh enzim xilanase dari *Trichoderma viride* menjadi gula reduksi jenis xilosa.

Yield gula reduksi hasil hidrolisis kulit kopi dapat dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

Yield gula reduksi =

$$\frac{\text{kadar total gula reduksi} \times \text{gram kulit kopi sesudah hidrolisa}}{\text{kadar (hemiselulosa+selulosa)} \times \text{gram kulit kopi yang dihidrolisis}}$$

Yield gula reduksi didefinisikan sebagai perbandingan jumlah gula reduksi yang dihasilkan selama hidrolisis dengan variasi waktu tertentu dengan gram selulosa dan hemiselulosa dalam 1 gram kulit buah kopi setelah dilakukan *pretreatment*. Yield hasil hidrolisis ditampilkan sebagai berikut:

Tabel IV.3. Yield Hasil Hidrolisa Kulit Kopi dengan Rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride*

No	Pre-Treatment Terbaik	Variabel AN:TR	Yield (gram gula reduksi yang dihasilkan
				gram (hemiselulosa + selulosa) di kulit kopi yang dihidrolisa)
1	BS-TR=1:2	AN:TV=1:1		0.116
2		AN:TV=1-1 + Surfaktan		0.123
3		AN:TV=1:2		0.143
4		AN:TV =1:2 + Surfaktan		0.152
5		AN:TV=2:1		0.131
6		AN:TV=2:1 + Surfaktan		0.140
7	AN:TR=1:1	AN:TV=1:1		0.167
8		AN:TV=1:1 + Surfaktan		0.195
9		AN:TV=1:2		0.188
10		AN:TV=1:2 + Surfaktan		0.190
11		AN:TV=2:1		0.173
12		AN:TV=2:1 + Surfaktan		0.207

Tabel IV.3 menunjukkan yield total gula reduksi setelah hidrolisa dari variabel pretreatment terbaik BS:TR=1:2(v/v) dan AN:TR=1:1(v/v). yang dilanjutkan dengan proses hidrolisa menggunakan rasio *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* serta penambahan surfaktan didapatkan yield terbaik untuk variabel pretreatment BS:TR=1:2(v/v) pada variabel *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 1:2 + Surfaktan sebesar 15.2%. Sedangkan untuk variabel pretreatment AN:TR dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger* : *Trichoderma viride* = 2:1 + Surfaktan sebesar 20.07%. Dalam hal ini jika dibandingkan dengan yield total gula reduksi yang didapatkan pada proses pre-treatment kimia (*Organosolv*) yang dilanjutkan dengan hidrolisa menggunakan enzim murni tanpa penambahan surfaktan didapatkan yield total

gula reduksi sebesar 12.6%. dapat diambil kesimpulan dari dua proses penelitian yang berbeda, pretreatment dengan penambahan rasio mikroorganisme yang dilanjutkan dengan hidrolisa menggunakan mikroorganisme dan penambahan surfaktan didapatkan total gula reduksi yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan hidrolisa menggunakan enzim yang sangat berpengaruh dalam perhitungan yield total gula reduksi. Semakin besar kadar total gula reduksi yang dihasilkan, semakin besar nilai yield yang didapatkan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.I Kesimpulan

Bedasarkan hasil penelitian dan analisa yang dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Persen penurunan lignin dan pektin terbaik pertama adalah variabel *Aspergillus niger:Trichoderma reesei* = 1:1(v/v) sebesar 99.9% menghasilkan selulosa sebesar 86.98%. Persen penurunan lignin dan pektin terbaik kedua adalah variabel *Bacillus subtilis:Trichoderma reesei* = 2:1(v/v) sebesar 99.9% menghasilkan selulosa sebesar 81.61%.
2. Hasil hidrolisa terbaik adalah variabel pretreatment *Aspergillus niger:Trichoderma reesei* (1:1) (v/v) dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger:Trichoderma viride* = 2:1 (v/v)+ Surfaktan memiliki gula total sebesar 20.04%. Sedangkan, variabel pretreatment *Bacillus subtilis:Trichoderma reesei* (2:1) (v/v) dengan rasio mikroorganisme *Aspergillus niger:Trichoderma viride* = 1:2 (v/v) + Surfaktan memiliki gula total sebesar 14,7%.

V.II Saran

1. Pengerucutan analisa gula reduksi.
2. Penambahan surfaktan diminimalkan.
3. Mengevaluasi setiap proses.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK. 1988. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Aderemi, B.O. , E. Abu, B. K. Highina. 2008. *The Kinetics of Glucose Production from Rice Straw by Aspergillus niger*. African Journal of Biotechnology.
- Alphonse, Pierre., Bleta, Rudina., and Soules, Regis. 2009. *Effet of PEG on Rheology and Stabiliy of Nanocrystalline Titania Hydrosol*. Journal of Colloid and Interface Science.
- Amiri, H. dan Keikhorso, K. 2014. *Organosolv Pretreatment of Rice Straw for Efficient Aceton, Butano, and Ethanol Production*. Isfahan University of Technology. Bioresource Technology.
- Dahot, M.U., dan Noomrio M.H.. 1996. *Microbial Production of Cellulases by Aspergillus Fumigatus Using Wheat Straw as A Carbon Source*. Journal of Islamic Academy of Sciences.
- Dewi. 2002. *Hidrolisis Limbah Hasil Pertanian Secara Enzimatik*. Akta Agrosia.
- Delvina, Vina. 2010. *Pengaruh Penambahan Surfaktan Terhadap Kelarutan Asam Salisilat*. Jurnal Farmasi.
- Dutta, Rajiv. 2008. *Fundamentals of Biochemical Engineering*. India: Springer.

- Ferreira, Susana, Duarte, Ana P., Ribeiro, Maria H.L., Queiroz, João A., Domingues, Fernanda C.. 2009. *Response Surface Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Cistus ladanifer and Cystisus striatus for Bioethanol Production*. Biochemical Engineering Journal.
- Foyle, A.s Jennings L and Mulcahy P. 2007. *Compositional Analysis of Lignocellulosic Materials : Evaluation of Methods Used for Sugar Analysis of Waste Paper and Straw*. Bioresour Technology.
- Kitek, Libor., Panacek, Ales., Soukupova, Jana., Kolar, Milan, Vecerova, Renata., Pucek, Robert., Holecova, Mirka., and Zboril, Radek. 2008. *Effet of Surfactantand Polymers on Stability and Antibacterial Activityf SilverNanoparticles*. Journal of Physical Chemisry.
- Geng, Anli dan Xin, Fengxue. 2012. *Ethanol Production from Horticultural Waste Treated by a Modified Organosolv Method*. Singapore.Ngee Ann Polytechnic. Bioresource Technology.
- Goes, et al. (1999). Reseach Note Effect of Surfactants on alfa-amylas Production n Solid Substrate Fementaion Process. *Department of Agricultural and Biosystem Engineering, McGill University*.

- Guan, Guoqiang., Zhang, Zhica., Ding, Li, Ming., Shi, Defu., Zu, Maxiaoqi., Xia, Lili. 2015. *Enhanced Degradation of Lignin in Corn Stalk by Combined method of Aspergillus oryzae solid State Fermentation and H₂O₂ Treatment*. Biomass and Bioenergy.
- Hidayat, A. S.. 2005. *Konsumsi BBM dan Peluang Pengembangan Energi Alternatif*. Jurnal Inovasi.
- Itoh, H., Wada, M., Honda, Y., Kuwahara, M., dan Watanabe, T. 2003. *Bioorganosolve Pretreatments for Simultaneous Saccharification and Fermentation of Beech Wood by Ethanolysis and White Rot Fungi*. J. Biotechnol.
- Lee, J.M. 1992. *Biochemical Engineering*. Prantice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Lee, Sun Bok, I. H. Kim, Dewey D. Y. Ryu, H. Taguchi. 1983. *Structural Properties of Cellulose and Cellulase Reaction Mechanism*. Biotechnology and Bioengineering.
- Leuner, C and Dressman J. 2000. *Improving Drug Solubility for Oral Delivery Using Solid Dispersion*. European of Pharmaceutics and Biopharmaceutics..
- Mtui, GYS. 2009. *A Review : Recent Advance in Pretratment of Lignocellulosic Wastes and Production of Value Added Product*. African J.of Bioethanol.

- Muthuvelayudham, R. dan T. Viruthagiri. 2006. *Fermentative Production and Kinetics of Cellulase Protein on Trichoderma reesei Using Sugarcane Bagasse and Rice Straw*. African Journal of Biotechnology.
- Park, S. Baker, J.O., Himmel, M.E., Parilla, P.A., Johnson, D.K. 2010. *Cellulose Crystallinity Index: Measurement Techniques and Their Impact on Interpreting Cellulase Performance*. Biotechnology for Biofuels.
- Soebijanto, T. 1986. *HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya*. Jakarta: Gramedia.
- Sugesty. 1986. *Sumber Bahan Baku Pulp*. Balai Besar Pulp dan Kertas.
- Taherzadeh, M. dan Karimi, K. 2007. *Acid-based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Material: a Review*
- Tariq, Anam; Latif, Zakia. (2012). Isolation and Biochemical Characterization of Bacterial Isolates Producing Different Levels of Polygalacturonase from Various Sources. *African Journal of Microbiology Research*.
- Widjaja, T., A. Altway, S. Nurkhamidah, L. Endahwati, F.Z Lini dan F. Octavia. 2016. *The Effect of Pretreatment and Variety of Microorganisms to The Production of Ethanol from Coffee Pulp*. ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences.

Widyotomo dan Sukrisno. 2013. *Development of Coffee Beans Caffeine Extraction Using Pressure and Temperature Controllable Reactor*. Proceeding ISABE 2013; August 28-29, Yogyakarta.

Widyotomo dan Sukrisno. 2013. *Potensi Teknologi Diversifikasi Limbah Kopi Menjadi Produk Bermutu dan Bernilai Tambah*. Review Penelitian Kopi dan Kakao.

APPENDIKS A
A-1
PERHITUNGAN KADAR AIR DAN XILOSA
UNTUK MENGUKUR AKTIVITAS ENZIM

A.1.1 Perhitungan Kadar Air Bahan Baku Kulit Kopi

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W_{\text{sampel}}} \times 100\%$$

Keterangan : W_1 = Berat cawan + sampel yang sudah di oven

W_2 = Berat cawan + sampel

W_{sampel} = Berat sampel yang diuji

Perhitungan : W_1 = 17.04 gr

W_2 = 17.67 gr

W_{sampel} = 1.081 gram

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air (\%)} &= \frac{17.67 - 17.04}{1.081} \times 100\% \\ &= 58.334 \% \end{aligned}$$

A-2
HASIL ANALISA FUNGAL TREATMENT

A.2.1 Hasil Analisa Lignin Rasio *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger*

Waktu (Jam)	Bacillus S : A. Niger (v/v)		
	BS:AN=1:1	BS:AN=1-2	BS:AN=2-1
0	5.21	5.21	5.21
24	0.0392	0.0281	0.025
48	0.0269	0.0227	0.016
72	0.0224	0.0205	0.012
96	0.0179	0.0136	0.01
120	0.0135	0.0068	0.008

144	0.0067	0.0045	0.0071
168	0.0045	0.0045	0.004

A.2.2 Hasil Analisa Pektin Rasio *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger*

Waktu (Jam)	Bacillus S : A. Niger (v/v)		
	BS:AN=1:1	BS:AN=1-2	BS:AN=2-1
0	2.28	2.28	2.28
24	0.1	0.056	0.032
48	0.07	0.045	0.03
72	0.049	0.027	0.02
96	0.031	0.02	0.016
120	0.022	0.014	0.007
144	0.004	0.007	0.006
168	0.002	0.005	0.002

A.2.3 Hasil Analisa Lignin Rasio *Bacillus subtilis* : *T. reseei*

Waktu (Jam)	Bacillus S : T. Reseei (v/v)		
	BS:TR=1-1	BS:TR=1-2	BS:TR=2-1
0	5.21	5.21	5.21
24	0.038	0.015	0.023
48	0.028	0.015	0.022
72	0.023	0.01	0.017
96	0.015	0.01	0.007
120	0.01	0.007	0.007
144	0.005	0.002	0.005
168	0.003	0.002	0.005

A.2.4 Hasil Analisa Pektin Rasio *Bacillus subtilis* : *T. reseei*

Waktu (Jam)	Bacillus S : T. Reseei (v/v)		
	BS:TR=1-1	BS:TR=1-2	BS:TR=2-1
0	2.28	2.28	2.28
24	0.049	0.041	0.0445
48	0.04	0.027	0.034
72	0.023	0.017	0.019
96	0.018	0.015	0.012
120	0.01	0.007	0.012
144	0.003	0.005	0.005
168	0.003	0.003	0.002

A.2.5 Hasil Analisa Lignin Rasio *Aspergillus niger* : *T. reseei*

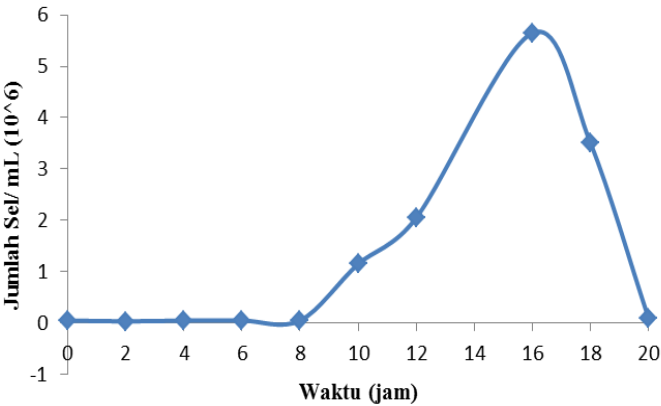
Waktu (Jam)	A. Niger : T.Reseei (v/v)		
	AN:TR=1-1	AN:TR=1-2	AN:TR=2-1
0	5.21	5.21	5.21
24	0.065	0.036	0.041
48	0.052	0.025	0.031
72	0.04	0.02	0.026
96	0.025	0.018	0.024
120	0.015	0.008	0.012
144	0.005	0.004	0.007
168	0.005	0.004	0.002

A.2.6 Hasil Analisa Pektin Rasio *Aspergillus niger* : *T. reseei*

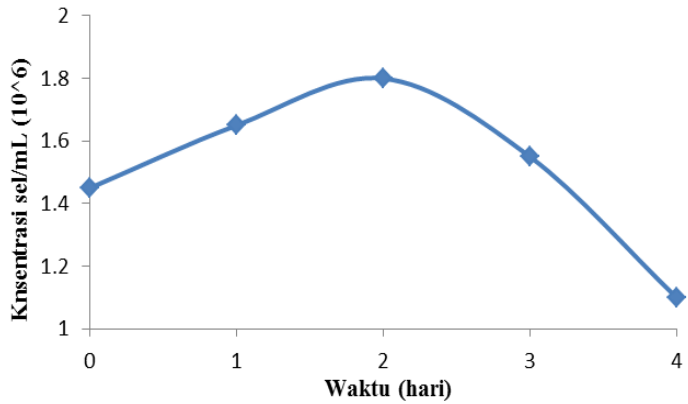
Waktu (Jam)	A. Niger : T.Reseei (v/v)		
	AN:TR=1-1	AN:TR=1-2	AN:TR=2-1
0	2.28	2.28	2.28
24	0.115	0.054	0.048
48	0.095	0.039	0.036
72	0.04	0.025	0.024
96	0.027	0.014	0.019
120	0.015	0.014	0.017
144	0.007	0.006	0.005
168	0.005	0.002	0.005

**A-3
KURVA PERTUMBUHAN MIKROBA**

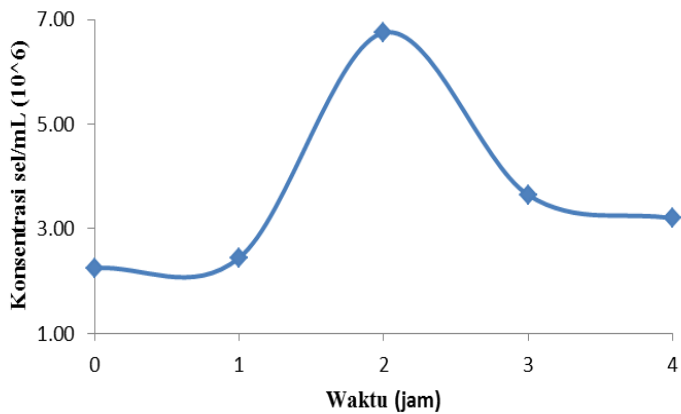
A-3.1 Kurva Pertumbuhan *Bacillus subtilis*



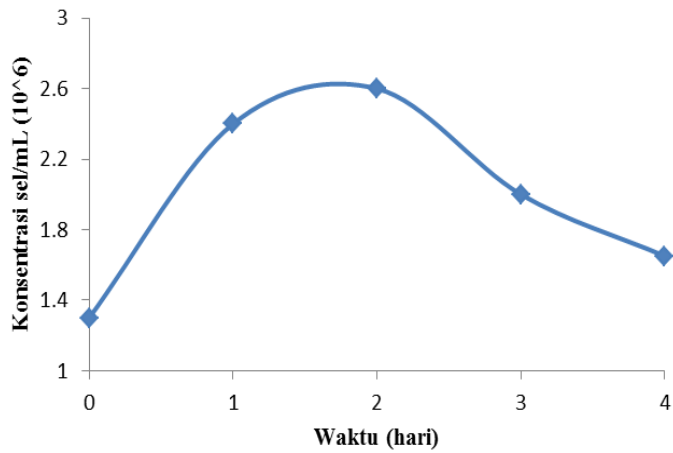
A-3.2 Kurva Pertumbuhan *Tricoderma reesei*



A-3.3 Kurva Pertumbuhan *Aspergillus niger*

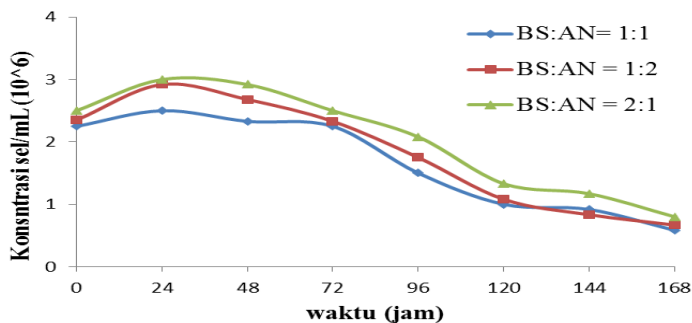


A-3.4 Kurva Pertumbuhan *Tricoderma viride*

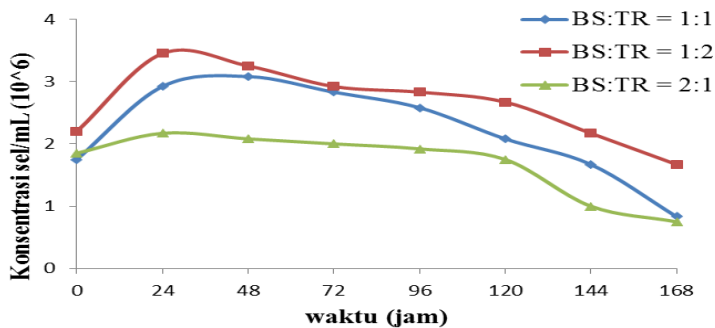


A-4
KURVA PERTUMBUHAN RASIO MIKROORGANISME
TERHADAP
WAKTU SELAMA PROSES FUNGAL TREATMENT

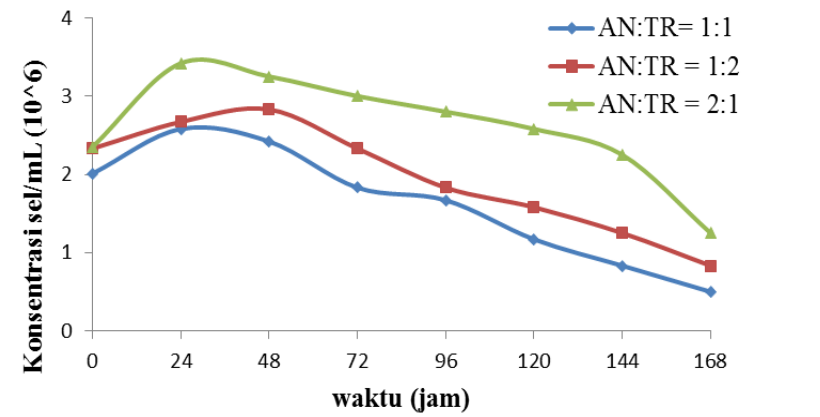
A-4.1 Kurva Pertumbuhan Rasio *Bacillus subtilis* : *Aspergillus niger* Terhadap Waktu pada Proses Fungal Treatment



A-4.2 Kurva Pertumbuhan Rasio *Bacillus subtilis* : *Tricoderma reesei* Terhadap Waktu pada Proses Fungal Treatment



A-4.3 Kurva Pertumbuhan Rasio *Aspergillus niger* : *Tricoderma reesei* Terhadap Waktu pada Proses Fungal Treatment



A-5
PERHITUNGAN PERSEN PENURUNAN LIGNIN DAN
PEKTIN,
SERTA KENAIKAN SELULOSA

A-5.1 Perhitungan Persen Penurunan Lignin

Konsentrasi Lignin awal = 5.21

Konsentrasi Lignin akhir = 0.0045

$$\text{Persen Penurunan} = \frac{\text{Konsentrasi Awal} - \text{Konsentrasi Akhir}}{\text{Konsentrasi Awal}} \times 100\%$$

$$\text{Persen Penurunan} = \frac{5.21 - 0.0045}{0.0045} \times 100\%$$

$$\text{Persen Penurunan} = 99.9\%$$

Untuk perhitungan persen penurunan lignin variabel lainnya dapat dilakukan dengan cara yang sama .

A-5.2 Perhitungan Persen Penurunan Pektin

Konsentrasi Pektin awal = 2.28

Konsentrasi Pektin akhir = 0.002

$$\text{Persen Penurunan} = \frac{\text{Konsentrasi Awal} - \text{Konsentrasi Akhir}}{\text{Konsentrasi Awal}} \times 100\%$$

$$\text{Persen Penurunan} = \frac{2.28 - 0.002}{2.28} \times 100\%$$

$$\text{Persen Penurunan} = 99.9\%$$

Untuk perhitungan persen penurunan pektin variabel lainnya dapat dilakukan dengan cara yang sama

A-5.3 Perhitungan Persen Kenaikan Selulosa

Konsentrasi Selulosa awal = 68.498

Konsentrasi Selulosa akhir = 57.9

$$\text{Persen Penurunan} = \frac{\text{Konsentrasi Akhir} - \text{Konsentrasi Awal}}{\text{Konsentrasi Awal}} \times 100\%$$

$$\text{Persen Penurunan} = \frac{68.498 - 57.9}{57.9} \times 100\%$$

$$\text{Persen Penurunan} = 18.30\%$$

Untuk perhitungan persen kenaikan selulosa variabel lainnya dapat dilakukan dengan cara yang sama .

A-6 HASIL ANALISA HIDROLISA

A-6.1 Hasil Analisa Gula Reduksi Setelah Hidrolisa dari Variabel Pre-Treatment Terbaik *Basillus subtilis* : *Tricoderma reesei* = 1:2 (v/v)

NO	Pre-Treatment	Variabel	Gula Reduksi Sesudah Hidrolisa (%)				
	Terbaik	AN:TV	Xylosa	Fruktosa	Glukosa	Galaktosa	Total
1	BS-TR=1:2	AN:TV=1-1	2.35	1.37	4.56	2.98	11.26
2		AN:TV=1-1 + Surfaktan	2.48	1.52	4.9	3.02	11.92
3		AN:TV=1:2	2.37	1.73	5.65	4.06	13.81
4		AN:TV =1:2 + Surfaktan	2.5	1.79	6.01	4.4	14.7
5		AN:TV=2:1	2.38	1.33	5.72	3.21	12.64
6		AN:TV=2:1 + Surfaktan	2.41	1.4	5.95	3.77	13.53

A-6.2 Hasil Analisa Gula Reduksi Setelah Hidrolisa dari Variabel Pre-Treatment Terbaik *Aspergillus niger* : *Tricoderma reesei* = 1:1 (v/v)

NO	Pre-Treatment	Variabel	Gula Reduksi Sesudah Hidrolisa (%)				
	Terbaik	AN:TV	Xylosa	Fruktosa	Glukosa	Galaktosa	Total
1	AN-TR=1:1	AN:TV=1-1	3.01	2.3	6.59	4.3	16.2
2		AN:TV=1-1 + Surfaktan	3.94	2.48	7.98	4.5	18.9
3		AN:TV=1:2	3.18	2.51	8.01	4.48	18.18
4		AN:TV =1:2 + Surfaktan	4.09	2.88	7.9	3.54	18.41
5		AN:TV=2:1	3.11	2.65	7.6	3.4	16.76
6		AN:TV=2:1 + Surfaktan	3.5	3.3	9.05	4.19	20.04

A-7 PERHITUNGAN YIELD GULA REDUKSI

A-7.1 Perhitungan Yield Gula Reduksi

Diambil data hasil massa gula hidrolisis rasio *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* pada pH 5, suhu hidrolisis 30°C dan waktu inkubasi selama 16 jam.

Kadar total gula reduksi = 11,26
 Massa kulit kopi sesudah hidrolisa = 0,87 gram
 Massa kulit kopi yang dihidrolisis = 1,0598 gram

Yield gula reduksi =

$$\begin{aligned} & \frac{\text{Kadar total gula reduksi} \times \text{massa kulit kopi sesudah hidrolisa}}{\text{Kadar (hemiselulosa+selulosa)} \times \text{massa kulit kopi yang dihidrolisis}} \\ &= \frac{0,1126 \times 0,87 \text{ gram}}{(57,9 + 21,63) \times 1,0598 \text{ gram}} \\ &= 0,11626 \frac{\text{gr gula reduksi}}{\text{gr (selulosa + hemiselulosa) kulit kopi yang dihidrolisis}} \end{aligned}$$

Untuk perhitungan yield variabel lainnya dapat dilakukan dengan cara yang sama

Yield gula reduksi =

$$\frac{\text{Kadar total gula reduksi} \times \text{gram kulit kopi sesudah hidrolisa}}{\text{Kadar (hemiselulosa+selulosa)} \times \text{gram kulit kopi yang dihidrolisa}}$$

RIWAYAT PENULIS



Dwi Ayu Primaningrum, penulis dilahirkan di Banyumas pada tanggal 13 April 1993 yang merupakan anak ke dua dari tiga bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu lulus dari TK Pertiwi Menganti pada tahun 1999, lulus dari SDN 2 Menganti pada tahun 2005, lulus dari SMPN 1 Rawalo pada tahun 2008 dan lulus dari SMAN 2 Purwokerto pada tahun 2011. Setelah lulus SMA penulis diterima di Program Studi Diploma III Teknik

Kimia FTI-ITS dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan kuliah Lintas Jalur S1 Teknik kimia. Selama kuliah, penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Diploma III Teknik Kimia FTI – ITS, sebagai anggota Staff Bidang PSDM (2013 - 2014), serta beberapa pelatihan dan seminar yang diadakan di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (ITS). Penulis pernah melaksanakan kerja praktek di PG.Ngadirejo, Kediri tahun 2013. Saat kuliah Lintas Jalur S1 Teknik Kimia, penulis pernah melaksanakan Kerja Praktek di Petrowidada, Gresik tahun 2015.
Email: dwi13chemeng@gmail.com

RIWAYAT PENULIS



Atikah Badriya Husein, penulis dilahirkan di Bangkalan pada tanggal 21 September 1994 yang merupakan anak ke pertama dari tiga bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu lulus dari TK Dharma Wanita pada tahun 2000, lulus dari SDN Bator 01 pada tahun 2006, lulus dari MTs Unggulan Amanatul Ummah Surabaya pada tahun 2009 dan lulus dari MA Unggulan Amanatul Ummah Surabaya pada tahun 2011. Setelah lulus SMA penulis diterima di Program Studi Diploma III Teknik Kimia FTI-ITS dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan kuliah Lintas Jalur S1 Teknik kimia. Penulis pernah melaksanakan kerja praktek di PG.Ngadirejo, Kediri tahun 2013. Saat kuliah Lintas Jalur S1 Teknik Kimia, penulis pernah melaksanakan Kerja Praktek di Petrokimia, Gresik tahun 2015
Email: Atikah Husain <atikah.husain01@gmail.com>